



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
MELHORAMENTO DE PLANTAS**

**SELEÇÃO DE POPULAÇÕES SEGREGANTES E
LINHAGENS DE FEIJÃO-COMUM PRETO
DESENVOLVIDAS EM SISTEMA EXCLUSIVO
DE FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO**

NAYANA VALÉRIA COSTA

Orientadora:

Prof.^a Dr.^a Patrícia Guimarães Santos Melo

Coorientadores:

Dr. Helton Santos Pereira

Dr. Leonardo Cunha Melo



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese Outro*: _____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. Nome completo do autor

NAYANA VALÉRIA COSTA

3. Título do trabalho

Seleção de populações segregantes e linhagens de feijão-comum preto desenvolvidas em sistema exclusivo de fixação biológica de nitrogênio

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação. O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **Patricia Guimaraes Santos Melo, Professora do Magistério Superior**, em 15/04/2024, às 15:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Nayana Valéria Costa, Discente**, em 16/04/2024, às 08:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4463485** e o código CRC **E30DDEE7**.

Referência: Processo nº 23070.015677/2024-08

SEI nº 4463485

NAYANA VALÉRIA COSTA

**SELEÇÃO DE POPULAÇÕES SEGREGANTES E LINHAGENS DE FEIJÃO-
COMUM PRETO DESENVOLVIDAS EM SISTEMA EXCLUSIVO DE
FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, da Escola de Agronomia, da Universidade Federal de Goiás (UFG), como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, na área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas.

Orientadora:

Prof.^a Dr.^a Patrícia Guimarães Santos Melo

Coorientadores:

Dr. Helton Santos Pereira

Dr. Leonardo Cunha Melo

Goiânia, GO – Brasil

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Costa, Nayana Valéria

Seleção de populações segregantes e linhagens de feijão-comum preto desenvolvidas em sistema exclusivo de fixação biológica de nitrogênio [manuscrito] / Nayana Valéria Costa. - 2024.

CV, 105 f.: il.

Orientador: Prof. Patrícia Guimarães Santos Melo; co-orientador Helton Santos Pereira; co-orientador Leonardo Cunha Melo.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia (EA), Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Goiânia, 2024.

Bibliografia. Apêndice.

Inclui siglas, gráfico, tabelas.

1. Phaseolus vulgaris L.. 2. Rhizobium. 3. fixação simbiótica de nitrogênio. 4. capacidade combinatória. 5. nodulação. I. Melo, Patrícia Guimarães Santos, orient. II. Título.

CDU 575



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

ESCOLA DE AGRONOMIA

ATA DE DEFESA DE TESE

Ata Nº **122** da sessão de Defesa de Tese de **NAYANA VALÉRIA COSTA** que confere o título de Doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, na área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas.

Aos vinte e dois dias do mês de março de dois mil e vinte e quatro, a partir das oito horas, realizou-se no Auditório Roland Vencovsky - Setor de Melhoramento de Plantas, a sessão pública de Defesa de Tese intitulada “Seleção de linhagens de feijão-comum do tipo preto eficientes para fixação biológica de nitrogênio”. Os trabalhos foram instalados pela Orientadora, Doutora Patrícia Guimarães Santos Melo (PPGGMP/UFG), com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Doutor Lázaro José Chaves (PPGGMP/UFG), membro titular interno; Doutora Miriam Suzane Vidotti (PPGGMP/UFG), membro titular interno; Doutora Polianna Alves Silva Dias (IF Goiano), membro titular externo, Doutor Fabrício Rodrigues (UEG/Ipameri), membro titular externo e Doutor Leonardo Cunha Melo (Embrapa Arroz e Feijão), coorientador. Durante a arguição os membros da banca fizeram sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Tese tendo sido a candidata aprovada pelos seus membros. Proclamados os resultados pela Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

Seleção de populações segregantes e linhagens de feijão-comum preto desenvolvidas em sistema exclusivo de fixação biológica de nitrogênio



Documento assinado eletronicamente por **Patricia Guimaraes Santos Melo, Professora do Magistério Superior**, em 22/03/2024, às 16:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fabrício Rodrigues, Usuário Externo**, em 25/03/2024, às 14:04, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Lazaro Jose Chaves, Professor do Magistério Superior**, em 25/03/2024, às 18:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Miriam Suzane Vidotti, Professora do Magistério Superior**, em 27/03/2024, às 11:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4463486** e o código CRC **2BBE5501**.

Referência: Processo nº 23070.015677/2024-08

SEI nº 4463486

"Nenhuma montanha é alta demais para ser escalada, nenhum objetivo é grande demais para ser alcançado quando o coração está cheio de determinação."

Autor Desconhecido

Aos meus pais, Sebastiana e Valdeir, e ao meu esposo, Carlos,

Por todo amor e incentivo.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por Sua graça e amor, que foram fundamentais para superar desafios e alcançar esta conquista. Que minha vida seja uma contínua expressão de fé, louvor e gratidão a Ti. A Ele, toda honra e toda glória.

Agradeço à minha família, em especial meus pais Valdeir e Sebastiana, pelo amor incondicional, apoio emocional e por toda dedicação e incentivo à minha educação. Suas palavras de encorajamento foram fundamentais para manter minha motivação. Ao meu esposo, Carlos, por ser meu porto seguro, meu melhor amigo, e minha paz nos momentos de dificuldade. Obrigada por todo amor, companheirismo, afeto, paciência e atenção que sempre teve por mim durante todos esses anos juntos. Aos meus avós, por toda preocupação e carinho que sempre tiveram comigo. Aos meus sogros Cristiana e José Carlos, que mesmo de longe sempre manifestam seu apoio e amor por mim.

Agradeço à minha orientadora Prof.^a Patrícia Guimarães Santos Melo, pela dedicação durante a construção gradual deste trabalho, por sua orientação segura e exemplo de profissionalismo. Aos meus coorientadores, Helton Santos Pereira e Leonardo Cunha Melo, por serem os grandes idealizadores deste projeto, pelos ensinamentos e todas as contribuições profissionais.

Agradeço aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da Universidade Federal de Goiás, por todo conhecimento compartilhado.

Agradeço à Embrapa Arroz e Feijão e aos funcionários e estagiários do Programa de Melhoramento de Feijão, pela estrutura disponibilizada, dedicação e atenção durante a montagem e condução dos experimentos e coleta dos dados. Aos funcionários da RIDESA/UFG, Djavan, Antônio e Gilmar, pela grande ajuda na montagem dos ensaios de casa de vegetação.

Agradeço aos amigos do PPGMP, por todo companheirismo e boa companhia. Em especial gostaria de agradecer ao Flávio Pereira, Ailton José, Angelina Ciappina, Laís Lopes, Priscilla Neves, Márcio Guedes, Sylluana Ribeiro, Luciana Lopes e Jéssica Fernanda por sua amizade sincera construída durante o período do doutorado e pelos momentos de descontração.

Agradeço aos membros do grupo EuGeM, pela parceria na realização dos eventos e trocas de conhecimento. Agradeço também os membros do grupo GEMP, em especial Willian Venâncio e Renato Gomide, pelo auxílio nas avaliações e análises.

Agradeço à Universidade Federal de Goiás, por sua estrutura física e docentes capacitados e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Agradeço aos membros da banca examinadora por suas valiosas contribuições.

Enfim, a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão deste trabalho, MUITO OBRIGADA!

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	5
GENERAL ABSTRACT.....	5
1 INTRODUÇÃO GERAL	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 CULTURA DO FEIJÃO-COMUM.....	15
2.2 NITROGÊNIO NO FEIJÃO-COMUM.....	17
2.3 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO (FBN)	19
2.3.1 FBN no feijão-comum	21
2.4 MELHORAMENTO GENÉTICO PARA FBN NO FEIJÃO-COMUM	25
2.4.1 Melhoramento para FBN desenvolvido pela Embrapa Arroz e Feijão... 31	
2.5 REFERÊNCIAS.....	34
3. SELEÇÃO DE GENITORES E POPULAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJÃO-COMUM PRETO DESENVOLVIDOS EM SISTEMA EXCLUSIVO DE FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO	46
3.1 INTRODUÇÃO	47
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	49
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
3.4 CONCLUSÃO	63
3.5 REFERÊNCIAS.....	63
APÊNDICES	69
4. PARÂMETROS GENÉTICOS E SELEÇÃO INDIRETA DE LINHAGENS ELITE PARA EFICIÊNCIA NA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM FEIJÃO-COMUM.....	73
4.1 INTRODUÇÃO	74
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	77
4.2.1 Experimentos de campo.....	77
4.2.2 Experimentos de casa de vegetação	79
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	81
4.4 CONCLUSÃO.....	96

4.5 REFERÊNCIAS.....	97
APÊNDICES	102
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	105

RESUMO GERAL

COSTA, N. V. **Seleção de populações segregantes e linhagens de feijão-comum preto desenvolvidas em sistema exclusivo de fixação biológica de nitrogênio.** 2024. 105 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2024.¹

O feijão-comum é uma leguminosa fonte de proteína na dieta da população de muitos países, como o Brasil. A cultura pode se beneficiar do processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN), porém, sua capacidade simbiótica é caracterizada como baixa em relação às demais leguminosas. A formação e condução de populações segregantes e a seleção de linhagens em solos cuja principal fonte de nitrogênio seja a FBN, pode auxiliar no desenvolvimento de genótipos específicos para esses ambientes. Os objetivos deste trabalho foram: i) selecionar genitores e populações segregantes de feijão-comum de grãos pretos, desenvolvidos exclusivamente sob FBN, promissores para produtividade de grãos e massa de 100 grãos; (ii) avaliar se a condução dos genótipos em ambientes cuja principal fonte de N é a FBN, foi eficiente para selecionar linhagens de bom desempenho simbiótico, usando a produtividade de grãos como critério de seleção; (iii) verificar a relação que os caracteres relacionados à FBN estabelecem entre si e com os caracteres agronômicos. No primeiro estudo, foram obtidas 28 populações segregantes a partir de cruzamentos em esquema dialélico completo entre oito genitores com grãos do tipo preto, alta produtividade e potencial para FBN. As populações segregantes foram avaliadas em solos cuja principal fonte de nitrogênio foi a FBN, em quatro ambientes. Foram avaliadas a massa de 100 grãos e a produtividade de grãos. A análise dialélica mostrou a existência de efeitos aditivos e não-aditivos no controle genético dos caracteres, com predominância de efeitos aditivos para a massa de 100 grãos e de efeitos não-aditivos para a produtividade de grãos. As maiores estimativas de capacidade geral de combinação (g_i), na análise conjunta, para o caráter massa de 100 grãos, foram observadas para os genitores BRS FP403, CNFP 15188 e BRS Esteio, enquanto que os genitores BRS Esplendor e CNFP 15310 foram os mais indicados para formar populações com maior produtividade de grãos, em sistemas de cultivo de FBN. As populações BRS FP403 / BRS Esplendor e BRS FP403 / CNFP 15310, aliaram boas estimativas de médias e capacidade específica de combinação (s_{ij}) para os dois caracteres, sendo promissoras para extração de linhagens superiores em ambientes voltados para a FBN. No segundo estudo, foram avaliadas 76 linhagens de uma população resultante do cruzamento entre genitores com alelos favoráveis para produtividade de grãos e FBN. Essa população foi conduzida em solos cuja principal fonte de N foi a inoculação com rizóbio, até a geração F₅, fase em que as linhagens foram coletadas. As 76 linhagens e 5 testemunhas foram avaliadas na safra de inverno de 2021 e 2022, em Santo Antônio de Goiás-GO, em condições de inoculação com rizóbio. Foram avaliados a produtividade de grãos, massa de 100 grãos e o aspecto visual de grãos. Foi realizada a seleção direta das dez melhores e dez piores linhagens para o caráter produtividade de grãos. As vinte linhagens selecionadas foram avaliadas em dois ensaios de casa de vegetação, juntamente com cinco testemunhas. Os caracteres avaliados foram teor de clorofila, massas secas da parte aérea e da raiz, número de nódulos, massas seca e específica de nódulos. Foi realizado o teste de Wilcoxon para comparação das médias dos dois grupos de linhagens, análises de correlação genética e fenotípica e de componentes principais para verificar a existência de associação entre os caracteres. Houve diferença significativa entre os grupos de linhagens apenas para a

¹ Orientadora: Prof.^a Dr.^a Patrícia Guimarães Santos Melo. Universidade Federal de Goiás.

¹ Coorientadores: Dr. Helton Santos Pereira e Dr. Leonardo Cunha Melo. Embrapa Arroz e Feijão.

massa específica de nódulos, o que indica que não houve diferença estatística entre o desempenho simbiótico das linhagens para a maioria dos caracteres. O resultado aponta que a condução da população segregante em ambientes cuja principal fonte de N foi a FBN, foi eficiente para manter na população apenas genótipos de melhor capacidade simbiótica e promover altos ganhos para produtividade de grãos. Houve importantes correlações significativas entre os caracteres avaliados. O teor de clorofila e a massa seca da parte aérea foram indicados para seleção indireta de genótipos de melhor desempenho simbiótico. Oito linhagens foram selecionadas para os ensaios avançados, com o objetivo final de lançar cultivares de feijão-comum do tipo preto recomendadas para ambientes de FBN.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L., *Rhizobium*, fixação simbiótica de nitrogênio, rizóbios, capacidade combinatória, nodulação, FBN.

¹ Orientadora: Prof.^a Dr.^a Patrícia Guimarães Santos Melo. Universidade Federal de Goiás.

¹ Coorientadores: Dr. Helton Santos Pereira e Dr. Leonardo Cunha Melo. Embrapa Arroz e Feijão.

GENERAL ABSTRACT

COSTA, N. V. **Selection of segregating populations and lines of black common bean developed in an exclusive biological nitrogen fixation system.** 2024. 105 p. Thesis (Doctor of Science in Genetics and Plant Breeding) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2024.¹

Common bean is a legume protein source in the diet of populations in many countries, such as Brazil. The crop can benefit from the biological nitrogen fixation (BNF) process; however, its symbiotic capacity is characterized as low compared to other legumes. The formation and testing of segregating populations and the selection of lines in soils where the main nitrogen source is BNF can assist in the development of specific genotypes for these environments. The objectives of this study were: i) to select parents and segregating populations of black-seeded common bean, developed exclusively under BNF, promising for grain yield and 100-grain weight; (ii) to evaluate if the cultivation of genotypes in environments where the main nitrogen source is BNF was efficient in selecting lines with good symbiotic performance, using grain yield as a selection criterion; (iii) to verify the relationship that traits related to BNF establish among themselves and with agronomic traits. In the first study, 28 segregating populations were obtained from crosses in a complete diallel scheme among eight parents with black-seeded grains, high yield, and potential for BNF. The segregating populations were evaluated in soils where the main nitrogen source was BNF, in four environments. One hundred-grain weight and grain yield were evaluated. The diallel analysis showed the existence of additive and non-additive effects in the genetic control of the traits, with a predominance of additive effects for 100-grain weight and non-additive effects for grain yield. The highest estimates of general combining ability (g_i), in the joint analysis, for the 100-grain weight, were observed for the parents BRS FP403, CNFP 15188, and BRS Esteio, while the parents BRS Esplendor and CNFP 15310 were the most indicated for forming populations with higher grain yield in BNF cultivation systems. The populations BRS FP403 / BRS Esplendor and BRS FP403 / CNFP 15310 combined good mean estimates and specific combining ability (s_{ij}) for the two characters, being promising for extracting superior lines in environments focused on BNF. In the second study, 76 lines from a population resulting from the cross between parents with favorable alleles for grain yield and BNF were evaluated. This population was grown in soils where the main nitrogen source was inoculation with rhizobia until generation F₅, when the lines were collected. The 76 lines and 5 checks were evaluated in the winter seasons of 2021 and 2022, in Santo Antônio de Goiás-GO, under rhizobia inoculation conditions. Grain yield, 100-grain weight, and visual grain aspect were evaluated. Direct selection of the ten best and ten worst lines for grain yield was performed. The twenty selected lines were evaluated in two greenhouse trials, along with five checks. The evaluated traits were chlorophyll content, shoot and root dry weights, nodule number, and dry and specific nodule weights. A Wilcoxon test was conducted to compare the means of the two groups of lines, as well as genetic and phenotypic correlation analyses and principal component analyses to verify the existence of associations between the traits. There was a significant difference between the groups of lines only for specific nodule weight, indicating that there was no statistical difference in the symbiotic performance of the lines for most traits. The result indicates that the cultivation of the segregating population in environments where the main nitrogen source was BNF was efficient in maintaining in the population

¹ Advisor: Prof. Dr. Patrícia Guimarães Santos Melo. Universidade Federal de Goiás.

¹ Co-advisors: Dr. Helton Santos Pereira e Dr. Leonardo Cunha Melo. Embrapa Arroz e Feijão.

only genotypes with better symbiotic capacity and promoting high gains for grain yield. There were important significant correlations between the evaluated traits. Chlorophyll content, shoot dry weight and specific nodule weight were indicated for indirect selection of genotypes with better symbiotic performance. Eight lines were selected for advanced trials, with the ultimate goal of releasing recommended black common bean cultivars for BNF environments.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L., *Rhizobium*, symbiotic nitrogen fixation, rhizobia, combining ability, nodulation, BNF.

¹ Advisor: Prof. Dr. Patrícia Guimarães Santos Melo. Universidade Federal de Goiás.

¹ Co-advisors: Dr. Helton Santos Pereira e Dr. Leonardo Cunha Melo. Embrapa Arroz e Feijão.

1 INTRODUÇÃO GERAL

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é um componente proteico e mineral de grande importância para a alimentação da população, e sua produção pode contribuir para a segurança alimentar mundial (Los et al., 2018). No Brasil, a cultura é produzida em praticamente todas as regiões, em até três épocas consecutivas de semeadura (Garcia et al., 2020). No entanto, a produtividade brasileira de feijão-comum ainda é considerada baixa, ficando em torno de 1,57 t ha⁻¹ (Embrapa Arroz e Feijão, 2023). A baixa produtividade se deve, em parte, a ampla gama de condições edafoclimáticas existente no país e a diversidade de tecnologias de cultivo adotadas pelos produtores (Martiniano-Souza et al., 2021).

Um dos fatores que podem proporcionar aumento da produtividade de grãos é o manejo da fertilidade do solo. O feijão-comum é uma planta altamente exigente em nutrientes e o nitrogênio é o macronutriente essencial requerido em maiores quantidades, uma vez que é constituinte de importantes biomoléculas vegetais (Wilker et al., 2020). As principais fontes do elemento para a agricultura são os fertilizantes nitrogenados e a fixação biológica de nitrogênio (FBN). Os fertilizantes minerais agrícolas, apesar de constituírem a forma assimilada mais rapidamente pelas plantas, exigem uma série de reações químicas, com liberação de gases causadores do efeito estufa, durante sua produção (Freitas, 2015). Além disso, apresentam custo elevado e não são acessíveis aos produtores menos capitalizados (Soares et al., 2016).

A FBN é uma alternativa promissora para diminuição dos impactos econômicos e ambientais causados pelo uso excessivo do nitrogênio mineral. Esse processo é classificado como simbiótico e ocorre entre as plantas e as chamadas bactérias diazotróficas, conhecidas como rizóbios. Estes microrganismos interagem com as raízes das plantas formando estruturas especializadas denominadas nódulos (Kamfwa et al., 2017). No interior destas estruturas, as bactérias fixam o nitrogênio atmosférico e o disponibilizam sob a forma amoniacal para as plantas. Em troca, as plantas disponibilizam os carboidratos e nutrientes que as bactérias necessitam para sobrevivência (Garg e Geetanjali, 2007).

No entanto, no feijão-comum a inoculação com rizóbios ainda não mostrou resultados consistentes que assegurem a substituição de todo fertilizante nitrogenado que deve ser aplicado durante o ciclo da cultura (Coelho et al., 2021). Isto ocorre, pois diversos fatores, bióticos e abióticos, podem influenciar os níveis de fixação biológica, que precisa de condições ideais para eficiência (Ferreira et al., 2013). Além disso, os esforços dos programas de melhoramento do feijão-comum para incremento da FBN foram baixos e, durante muitos anos, os programas selecionaram os genótipos em solos com níveis elevados de fertilização nitrogenada (Kamfwa et al., 2019; Coelho et al., 2021), o que reduz a nodulação e a eficiência das estirpes de bactérias (Jiang et al., 2020; Sousa et al., 2022).

Porém, estudos têm apontado a existência de variabilidade genética para eficiência simbiótica no feijão-comum, tanto em genótipos silvestres e tradicionais pouco melhorados (Ferreira et al., 2010; Knnup et al., 2017; Wilker et al., 2019), como em cultivares e linhagens elite (Pereira et al., 2015; Polania et al., 2016; Heilig et al., 2017b; Dias et al., 2020; Pacheco et al., 2020). No entanto, poucos estudos têm mostrado o desenvolvimento de linhagens de feijão-comum em sistemas exclusivamente dependentes de FBN, o que é essencial para obter condições favoráveis para expressão do caráter (Pereira et al., 2015).

Existem ferramentas aplicadas ao melhoramento genético do feijão-comum para vários caracteres que podem ser aproveitadas no estudo da FBN na cultura. Dentre elas, citam-se os cruzamentos dialélicos, que são utilizados na seleção de genitores e populações segregantes, obtenção de inferências acerca da natureza dos efeitos gênicos envolvidos no controle genético dos caracteres e definição de estratégias de seleção (Cruz et al., 2012; Ramalho et al., 2012). Porém, estudos atuais envolvendo este tipo de delineamento genético na seleção de genitores e populações segregantes para FBN no feijão-comum não foram encontrados na literatura. Tais estudos poderiam ser úteis na formação de populações base desenvolvidas a partir de genitores com alelos favoráveis para caracteres agrônômicos e relacionados à FBN.

A avaliação da variabilidade genética de populações a partir da estimação de parâmetros genéticos também se constitui importante mecanismo para a obtenção de ganhos com a seleção de genótipos eficientes simbioticamente (Ramalho et al., 2012; Farid et al., 2017). Assim como a maioria dos caracteres de importância para o feijão-comum, a FBN apresenta herança quantitativa e alta influência ambiental (Kamfwa et al., 2017). Dessa forma, a partir da estimação dos efeitos genéticos e ambientais que atuam

na expressão dos caracteres, é possível quantificar a fração herdável da variabilidade fenotípica de uma população, determinando o método mais adequado para condução dos genótipos, além do ganho esperado com a seleção (Ramalho et al., 2012).

Uma das maiores dificuldades da incorporação da FBN na rotina dos programas de melhoramento é a sua fenotipagem trabalhosa (Nagpal et al., 2023). Esse fato dificulta as avaliações, principalmente nas fases iniciais dos programas, em que o volume de genótipos é elevado. O entendimento acerca da associação entre a FBN e os caracteres agronômicos pode ser útil na exploração da seleção indireta de linhagens de alto rendimento com alta habilidade de FBN em programas de melhoramento do feijão-comum (Farid et al., 2017). Assim, podem-se utilizar caracteres rotineiramente avaliados nos programas de melhoramento, ou de mais fácil mensuração, como indicadores do desempenho simbiótico.

Diante do exposto, os objetivos da pesquisa foram: i) selecionar genitores e populações segregantes de feijão-comum de grãos pretos promissores para produtividade de grãos e massa de 100 grãos e desenvolvidos exclusivamente sob FBN; (ii) avaliar se a condução dos genótipos em ambientes cuja principal fonte de N é a FBN, foi eficiente para selecionar linhagens de bom desempenho simbiótico, usando a produtividade de grãos como critério de seleção; (iii) verificar a relação que os caracteres relacionados à FBN estabelecem entre si e com os caracteres agronômicos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CULTURA DO FEIJÃO-COMUM

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das leguminosas mais cultivadas e consumidas mundialmente. Cerca de 2,5 milhões de toneladas do grão foram produzidas no Brasil em 2022, o que inclui variados tipos de feijão-comum, com cores, tamanhos, texturas e sabores distintos (Embrapa Arroz e Feijão, 2023). Além de sua importância econômica, a cultura apresenta relevante papel social, principalmente devido à sua composição nutritiva, já que é fonte de proteínas, minerais, fibras e vitaminas, além de apresentar alto conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados e carboidratos, sendo capaz de contribuir para a segurança alimentar da população mundial (Moraes & Menelau, 2017).

O centro de origem do feijão-comum é situado na América do Sul, muito provavelmente no sul do Equador e norte do Peru. Os feijões selvagens foram domesticados independentemente em toda faixa geográfica, desde a Argentina até o México, o que resultou em dois conjuntos gênicos distintos de feijão-comum cultivado: o Andino, cuja domesticação ocorreu do Equador ao sul; e o Mesoamericano, com domesticação da Colômbia para o norte (Kelly, 2010). Dentro dos conjuntos gênicos domesticados foram identificadas várias raças com base na morfologia da planta, distribuição geográfica e ecológica e informações moleculares. As cultivares do grupo Andino apresentam grãos de tamanho maior, como os do tipo branco, *dark red kidney*, jalo e rajado. Já as cultivares do grupo Mesoamericano, possuem grãos menores como os do tipo carioca, preto, mulatinho, pinto e vermelho (Acosta-Gallegos et al., 2007).

O Brasil destaca-se como o maior produtor e consumidor mundial de feijão-comum, com um consumo per capita estimado de 17 kg ano⁻¹ (Silva, 2019). Por ser uma cultura de ciclo curto, o feijão-comum pode ser cultivado em três safras distintas no Brasil, o que favorece a constante oferta do produto no mercado nacional (CONAB, 2024). Assim, tem-se a primeira safra (safra das águas), cujo plantio é realizado entre agosto e dezembro, a segunda safra (safra da seca), semeada entre janeiro e abril e a terceira safra (safra de inverno ou irrigada) em que o cultivo é feito de maio a julho. Ainda

que estes períodos de plantio apresentem variações de ano para ano, a cultura possibilita colheita praticamente o ano inteiro, havendo sobreposição de safras em algumas regiões do país (Garcia et al., 2020).

No Brasil, podem ser cultivados distintos grupos comerciais de feijão-comum, dentre eles cita-se o carioca, preto, rajado, roxo, rosinha e jalo (Vieira et al., 2006), que podem ser distinguidos visualmente pela coloração do tegumento, presença ou não de rajas e tamanho dos grãos. O tipo de feijão-comum consumido difere em relação as regiões brasileiras, o que deve ser respeitado em qualquer análise em relação à cultura (Souza & Wander, 2014). No país, a preferência de consumo é pelos grupos comerciais carioca e preto, que representam 70% e 15% da produção brasileira, por isso, os programas de melhoramento no país concentram maiores esforços nesses dois tipos de grãos (Pereira et al., 2019).

O feijão-comum é produzido na maioria dos estados brasileiros, principalmente nos das regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, além de alguns do Norte e Nordeste. Em 2022, a produção brasileira de feijão-comum foi de 2,5 milhões de toneladas, considerando as três safras e todos os tipos de grãos, sendo os principais estados produtores o Paraná, Minas Gerais, Mato Grosso e Goiás. Já quando se consideram os dados de produtividade, observa-se contrastes entre as regiões do Brasil. Enquanto a região Centro-Sul apresentou uma produtividade de $1,84 \text{ t ha}^{-1}$, as regiões Norte e Nordeste apresentam produtividade de apenas $0,87 \text{ t ha}^{-1}$ (Embrapa, 2023). As baixas produtividades no Norte e Nordeste ocorrem, pois a maior parte da produção é realizada por agricultores familiares, em pequenas áreas. Estes produtores destinam sua produção principalmente à subsistência, utilizando poucos insumos e baixa tecnologia (Pereira et al., 2016; Martiniano-Souza et al., 2021).

Dentre os fatores que podem contribuir para o aumento da produtividade do grão está a fertilidade do solo, uma vez que a cultura é considerada exigente em nutrientes e os solos brasileiros são pouco férteis (Silva et al., 2012). O nitrogênio é o nutriente requerido em maior quantidade pelo feijão-comum e sua baixa disponibilidade é um fator limitante para a alta produtividade da cultura. O nutriente pode ser disponibilizado para a planta sob a forma de fertilizantes minerais e fixação biológica de nitrogênio, em que bactérias simbióticas convertem o nitrogênio atmosférico em amônio, tornando-o disponível para as plantas (Reinprecht et al., 2020). Este processo pode ser uma alternativa ao uso de adubos nitrogenados, desde que a simbiose com as bactérias supra

o nitrogênio necessário ao crescimento e desenvolvimento das plantas (Fonseca et al., 2013).

2.2 NITROGÊNIO NO FEIJÃO-COMUM

O nitrogênio é um macronutriente essencial e requerido em grandes quantidades pela maioria das culturas. Sua absorção pelas plantas ocorre principalmente na forma de nitrato (NO_3^-) ou de amônio (NH_4^+), sendo a primeira forma a mais frequente (Soumare et al., 2020). Apesar da grande quantidade de nitrogênio molecular encontrada na atmosfera, sua abundância não é refletida em disponibilidade para as plantas. Isso ocorre, pois o nitrogênio atmosférico (N_2) apresenta alta estabilidade, com uma forte ligação tripla covalente entre os dois átomos ($\text{N}\equiv\text{N}$), o que exige que a formação do nitrato ou amônio seja feita a partir do processo de fixação, que pode ocorrer por vias industriais ou naturais (Taiz et al., 2017).

O processo industrial de fixação do nitrogênio é essencial para a produção dos fertilizantes agrícolas e exige altas temperaturas e pressões. No entanto, este processo tem sido apontado como um dos principais causadores do efeito estufa, já que durante as operações de produção ocorrem reações com liberação do óxido nitroso, que tem um potencial de aquecimento global 310 vezes superior ao gás carbônico (Freitas, 2015). Já o processo natural de fixação, ocorre, principalmente, a partir de bactérias fixadoras, que são capazes de transformar o nitrogênio atmosférico em formas assimiláveis, como a amônia. Algumas destas bactérias são capazes de formar associações simbióticas com plantas superiores, fornecendo nitrogênio para estas em troca de carboidratos e nutrientes (Soumare et al., 2020).

Após absorvido pelas raízes das plantas, o nitrogênio é assimilado, ou seja, incorporado em compostos orgânicos nitrogenados. Este elemento é constituinte de proteínas, ácidos nucleicos, hormônios vegetais e outras importantes biomoléculas, sendo que, somente as proteínas abrangem cerca de 60% ou mais de todo nitrogênio presente nas plantas (Vieira, 2017; Wilker et al., 2020). Além disso, o elemento atua de forma direta sobre as taxas fotossintéticas, sobretudo por ser um dos principais constituintes da clorofila. Toda importância desse elemento faz com que sua disponibilização em quantidades inadequadas seja prejudicial às plantas, afetando diretamente seu crescimento e produção (Soratto et al., 2014). O sintoma característico da deficiência deste mineral na maioria das culturas é a clorose ou amarelecimento das folhas mais

velhas, próximas à base da planta, o que ocorre devido a mobilização do mineral para as folhas jovens. Sob forte deficiência de nitrogênio, as folhas velhas se tornam completamente amareladas e desprendem-se da planta com facilidade (Taiz et al., 2017).

Os fertilizantes nitrogenados utilizados na agricultura, apesar de representarem a forma assimilada com maior rapidez pelas plantas, apresentam desvantagens consideráveis, como o alto custo, a emissão de gases de efeito estufa durante sua produção e a poluição das águas causada pelo processo de lixiviação (Hungria et al. 2007). Além disso, devido à alta mobilidade deste nutriente no solo, na maioria dos sistemas de produção, sua disponibilidade é quase sempre um fator limitante, ou seja, menos de 50% do nitrogênio aplicado sob a forma de adubos nitrogenados é aproveitado pelas plantas (Hungria et al., 2007; Figueiredo et al., 2016).

O feijão-comum é considerado uma cultura altamente exigente em nutrientes. Devido ao seu ciclo curto e sistema radicular pequeno e superficial, os nutrientes devem ser fornecidos para a planta no momento e local adequados, sendo o nitrogênio o nutriente requerido em maiores quantidades (Soratto et al., 2014; Soares et al., 2016). A absorção de nitrogênio pela cultura é baixa até os primeiros trinta dias após a semeadura. A época de maior demanda da planta pelo nutriente ocorre dos 45 aos 55 dias após a emergência, ou seja, durante a formação das vagens. Entre 58 e 69% do nitrogênio absorvido ao longo do ciclo é efetivamente exportado para os grãos (Soratto et al., 2013).

A recomendação de adubação nitrogenada para o feijão-comum é realizada de acordo com a expectativa de rendimento de grãos e a textura do solo, sendo aconselhável seu parcelamento, devido à alta mobilidade apresentada por esse nutriente no solo. Na adubação de semeadura é recomendada a aplicação de 20 kg ha⁻¹ de nitrogênio e na adubação de cobertura, realizada com o início da formação dos botões florais, a recomendação varia de 40 a 80 kg ha⁻¹, a depender da produtividade esperada pelo produtor (Carvalho e Silveira, 2023).

No entanto, respostas no desempenho agrônômico do feijão-comum em relação à adubação nitrogenada têm sido distintas no Brasil. Moreira et al. (2013) relataram aumento da produtividade de grãos e número de vagens por planta a partir da aplicação de 120 kg ha⁻¹ de nitrogênio em semeadura, não havendo incrementos com as dosagens aplicadas em cobertura. Em estudos realizados por Binotti et al. (2010), a dosagem de 80 kg ha⁻¹ de nitrogênio aplicada em cobertura foi a que proporcionou maior aumento da produtividade. Já Salvador Neto et al. (2022), avaliaram o desempenho de cultivares de feijão-comum a partir de quatro doses de nitrogênio em cobertura e

concluíram que a dose de 210 kg ha⁻¹ foi a que proporcionou as maiores médias de produtividade de grãos, o que, segundo os autores, indica que a cultura apresenta maior exigência de nitrogênio do que é recomendado na literatura.

Além da adubação nitrogenada via fertilizantes minerais, o suprimento de nitrogênio no feijão-comum pode ser realizado por meio da FBN. No entanto, ao contrário da soja, a inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Rhizobium* no feijão-comum, nem sempre é suficiente para suprir toda demanda deste nutriente, uma vez que ainda não há resultados consistentes que possibilitem a recomendação desta técnica para substituição total dos fertilizantes nitrogenados nas condições de cultivo brasileiras (Coelho et al., 2021). Porém, apesar de não suprir toda a exigência do nutriente requerida pela cultura, a FBN pode promover reduções no uso da adubação nitrogenada, representando uma economia considerável aos produtores (Bertoldo et al., 2015).

2.3 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO (FBN)

Embora seja o principal constituinte do ar (cerca de 80%), na atmosfera, o nitrogênio encontra-se sob uma forma química indisponível para assimilação de animais e plantas. Isto ocorre devido à elevada estabilidade do gás N₂, que apresenta uma forte ligação tripla entre seus átomos. Entretanto, os gases atmosféricos que se difundem pelos espaços porosos do solo conseguem ser aproveitados por alguns microrganismos capazes de transformar o nitrogênio atmosférico em formas assimiláveis, como a amônia (NH₃). Neste processo, uma enzima catalizadora presente nestes microrganismos, a nitrogenase, é capaz de romper a tripla ligação do N₂ e reduzi-lo a NH₃, processo conhecido como fixação biológica de nitrogênio (Hungria et al., 2007).

Os microrganismos fixadores de nitrogênio são as denominadas bactérias diazotróficas. Estas bactérias são capazes de se associar a plantas de diferentes espécies, no entanto, a associação com plantas da família *Fabaceae* (*Leguminosae*) representa a maior contribuição do processo de fixação biológica de nitrogênio para a agricultura (Wilker et al., 2019). A capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico é restrita à um número limitado de grupos bacterianos, que inclui, principalmente, os gêneros *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Sinorhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Herbaspirillum*, cujas respectivas espécies são coletivamente denominadas rizóbios (Shahrajabian et al., 2021).

Para que a FBN ocorra, as leguminosas se associam simbioticamente aos rizóbios, que interagem com as raízes das plantas formando estruturas especializadas

denominadas nódulos (Kamfwa et al., 2017). No interior destes nódulos as bactérias ficam alojadas e realizam a captura e fixação do nitrogênio atmosférico. A amônia, resultante do processo de fixação, é incorporada em compostos carbônicos e conduzida dos nódulos para a parte aérea das plantas, onde é utilizada na síntese de proteínas e outros compostos nitrogenados fundamentais ao metabolismo da planta (Vargas et al., 2004). Este processo é classificado como simbiótico, pois os rizóbios se beneficiam a partir do fornecimento de carboidratos pelas plantas hospedeiras e as plantas são beneficiadas pela amônia disponibilizada pelas bactérias (Garg e Geetanjali, 2007).

A formação dos nódulos radiculares nas leguminosas ocorre a partir de uma intensa troca de sinais moleculares entre a planta e o rizóbio (Mercante & Franco, 2000). Inicialmente, a planta hospedeira libera exsudatos, em especial os flavonóides, que além de atuarem como substância atraente para a bactéria, também funcionam como indutores de genes de nodulação, também chamados genes *nod* do rizóbio (López-Lara, 1995; Perret et al., 2000). Após ativos, estes genes fazem com que a bactéria sintetize os denominados fatores *nod*, que são reconhecidos como oligossacarídeos lipoquitínicos. Tais fatores são responsáveis pelas alterações na morfologia das raízes das plantas na fase inicial da infecção, em que ocorre o encurvamento do pelo radicular, início da divisão celular no córtex da raiz e indução do meristema do nódulo (Gage, 2004).

Após este processo, inicia-se a infecção das plantas propriamente dita, em que ocorre a adesão do rizóbio aos pelos radiculares e posterior dissolução da parede celular vegetal, o que permite a entrada das bactérias nas raízes. A partir daí, forma-se o chamado cordão de infecção, que se alonga em direção ao córtex radicular, levando o rizóbio até o meristema do nódulo (Gage, 2004; Prell & Poole, 2006). Por meio de uma série de processos de divisão, as células infectadas diferenciam-se, dando origem aos nódulos. Assim que atinge a região cortical das plantas, o rizóbio perde sua capacidade de divisão celular, se transformando em bacteroide, dando início, então, ao processo de fixação biológica de nitrogênio (Mercante et al., 2002).

Devido à enzima nitrogenase ser extremamente sensível ao oxigênio e ser inativada na presença deste (Gage, 2004), ao longo do período de estabelecimento da simbiose, a planta passa a sintetizar proteínas nodulares específicas, denominadas nodulinas. Dentre elas cita-se a leghemoglobina, que controla o fornecimento de oxigênio para os tecidos do nódulo, garantindo proteção à nitrogenase. Esta nodulina fica localizada no citosol das células vegetais infectadas e confere aos nódulos uma coloração

rósea característica, o que é utilizado como indicativo da funcionalidade nodular em avaliações (Vieira, 2017).

Todos os processos envolvidos no estabelecimento da simbiose podem ser fonte de variabilidade genética vegetal. Fatores como a quantidade de exsudatos liberados, facilidade de adesão do rizóbio aos pelos radiculares, dissolução da parede celular vegetal, formação efetiva do cordão de infecção e dos nódulos e a síntese de proteínas nodulares específicas, podem diferenciar as plantas mais eficientes simbioticamente, fazendo com que alguns genótipos sejam melhores fixadores de nitrogênio que outros. Dessa forma, cabe aos programas de melhoramento genético definir as melhores estratégias de seleção. Para aumentar as chances de sucesso, deve-se desenvolver e selecionar os genótipos em ambientes sob sistema de inoculação com rizóbio, favorecendo a expressão da FBN.

Para assegurar um número suficiente de rizóbios na zona radicular das plantas e garantir uma nodulação efetiva, é necessário que seja feita a inoculação das sementes na ocasião do plantio. O inoculante é o produto que contém rizóbios, utilizado pelo agricultor para a inoculação de sementes (Sousa & Lobato, 2004). Estes produtos são fabricados para cada cultura especificamente, e, de acordo com a legislação brasileira, os inoculantes precisam apresentar um número mínimo de 10^9 células viáveis da espécie de rizóbio por grama ou mililitro do produto (Sachetti & Vasconcelos, 2016). Este elevado número de células se faz necessário, pois no solo há populações de rizóbios nativas que podem competir com os microrganismos inoculados, afetando a probabilidade de sucesso da FBN (Sousa & Lobato, 2004).

2.3.1 FBN no feijão-comum

A família *Rhizobiaceae* apresenta quatro gêneros principais de bactérias diazotróficas: *Rhizobium*, *Ensifer* (anteriormente *Sinorhizobium*), *Allorhizobium* e *Agrobacterium* (Dionísio et al., 2016). Destes, o primeiro é o que contém espécies que realizam FBN de forma eficaz no feijão-comum. Nos centros de origem da cultura, a espécie predominante nos nódulos é a *R. etli*. No entanto, muitas outras espécies de bactérias diazotróficas já foram encontradas em simbiose com o feijão-comum em locais em que a cultura foi introduzida, como *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, *R. gallicum* bv. *phaseoli* e *R. giardinii* bv. *phaseoli* (Martínez-Romero, 2003). Porém, a espécie *R. tropici*

foi a que apresentou maior estabilidade simbiótica, além de ser bem adaptada a solos ácidos e temperaturas elevadas (Hungria et al., 2000; Hungria et al., 2003).

Apesar de o feijão-comum se beneficiar do processo de FBN, a inoculação da cultura com bactérias diazotróficas não apresenta resultados consistentes que viabilizem sua recomendação para substituição de todo fertilizante nitrogenado nas condições de cultivo brasileiras (Coelho et al., 2021). Diversos fatores podem ser limitantes à fixação de nitrogênio na cultura, que, como todo processo biológico, necessita de condições adequadas para expressar sua máxima eficácia. Tais fatores podem ser divididos em bióticos, como a competição existente entre as populações de rizóbios nativos do solo e aqueles provenientes da inoculação; e abióticos, dos quais cita-se o estresse hídrico, as elevadas temperaturas, a incompatibilidade do inoculante com outros produtos aplicados a semente e a fertilidade do solo (Ferreira et al., 2013).

Devido ao feijão-comum ser originário das Américas, os solos destas regiões apresentam grande diversidade de espécies nativas de rizóbios capazes de estabelecer simbiose com a cultura (Grange et al., 2007; Torres et al., 2009). Isto sustenta a afirmação de que a leguminosa é considerada um hospedeiro promíscuo e que existe grande diversidade de interações entre as plantas e o rizóbio (Moura et al., 2022). No entanto, a maior parte das bactérias nativas apresentam baixa eficiência de FBN, apesar de sua alta capacidade de nodulação, e acabam competindo com os rizóbios inoculados pelos sítios de infecção das plantas, obtendo vantagens por estarem presentes no solo em maior número (Shamseldin e Velázquez, 2020). Isto faz com que as respostas à inoculação da cultura nem sempre sejam satisfatórias.

O adequado fornecimento de água para o feijão-comum também é considerado um fator chave para o bom desempenho da simbiose entre a cultura e o rizóbio (Devi et al., 2013; Polania et al., 2016). O estresse hídrico pode reduzir significativamente o número e a biomassa dos nódulos e o nitrogênio fixado na parte aérea das plantas, além de promover a diminuição da habilidade competitiva das bactérias inoculadas, uma vez que a população nativa do solo geralmente apresenta-se melhor adaptada a tal situação (Tajini et al., 2012). Ramos et al. (1999) mostram, ainda, que as condições de estresse hídrico podem comprometer significativamente a atividade da nitrogenase e diminuir o teor de proteínas e amido dos nódulos, o que contribui para um aumento da senescência dos mesmos. Uma das possíveis soluções para tal problema concentra-se na busca de cultivares de feijão-comum tolerantes a condições de seca,

visando incrementos na FBN em regiões predispostas à deficiência hídrica (Polania et al., 2016).

A alta temperatura do solo em regiões tropicais também é um grande obstáculo à FBN em culturas leguminosas. Este problema, juntamente com a baixa umidade, são as principais causas de falhas na nodulação, o que afeta todos os estágios da simbiose e limita o crescimento e sobrevivência dos rizóbios no solo (Coelho et al., 2021). Para o feijão-comum, o ideal funcionamento dos nódulos ocorre sob temperaturas de 25 a 30°C e atinge níveis críticos sob temperaturas entre 30 e 32°C (Hernandez-Armenta et al., 1989; Alexandre e Oliveira, 2013), o que é preocupante, já que a temperatura do solo frequentemente ultrapassa 40°C no verão das regiões tropicais (Hungria & Franco, 1993). Entretanto, cabe ressaltar que a espécie *R. tropici*, muito utilizada para inoculação do feijão-comum, pode fixar nitrogênio de forma adequada sob temperaturas em torno de 40°C (Hungria et al., 2000; Hungria et al., 2003).

Outro fator que afeta a FBN no feijão-comum é a possível incompatibilidade entre os produtos aplicados durante o tratamento de sementes, principalmente os fungicidas, e o inoculante, o que pode causar a senescência do rizóbio (Oliveira et al., 2018). A toxicidade dos fungicidas se manifesta de forma variável, a depender do princípio ativo utilizado e da estirpe de rizóbio inoculada. Em estudo realizado por Kintschev et al. (2014), foi constatado que a aplicação de fungicidas, principalmente os que apresentavam modo de ação de contato, afetou a sobrevivência das estirpes de *R. tropici*, além de proporcionarem redução da nodulação e da produtividade do feijão-comum. Dessa forma, segundo Cardillo et al. (2019), a inoculação via sulco de semeadura é recomendada quando as sementes de feijão-comum forem tratadas com fungicidas, para que não haja contato direto das bactérias com os produtos e sua sobrevivência não seja comprometida.

A baixa fertilidade natural e elevada acidez, muito observadas em solos intemperizados, constituem importantes restrições à FBN no feijão-comum em regiões tropicais (Coelho et al., 2021). Em solos ácidos, o molibdênio encontra-se fixado a óxidos de ferro e alumínio e ligado à matéria orgânica. Já o fósforo, nas mesmas condições, apresenta baixa taxa de recuperação pelas culturas, pois a maior parte do nutriente fica indisponível devido à adsorção, precipitação ou conversão para formas orgânicas (Chagas et al., 2010). Estes dois nutrientes são considerados indispensáveis ao bom desempenho da FBN no feijão-comum. Como a fixação de nitrogênio demanda grande gasto de energia pelas plantas e o fósforo exerce importante papel no metabolismo energético das células,

a deficiência deste nutriente impacta negativamente o crescimento e funcionamento dos nódulos (Rousk et al., 2017). Já o molibdênio está envolvido no metabolismo do nitrogênio, além de ser componente da nitrogenase e de outras quatro enzimas vegetais que catalisam reações redox (Silva et al., 2017).

Outro fator relacionado à fertilidade que influencia de forma direta na fixação biológica são os níveis de nitrogênio presentes no solo, que, quando altos, reduzem a nodulação e a eficiência das estirpes de rizóbio (Reinprecht et al., 2020; Coelho et al., 2021). Ao analisar 68 estudos de sete países, Sousa et al. (2022) realizaram uma meta-análise com o objetivo de investigar os efeitos da inoculação com rizóbio, em comparação com a fertilização mineral nitrogenada, nos caracteres de nodulação e produtividade de grãos. Comparado com a adubação nitrogenada, a inoculação proporcionou aumento de 72,49% e 43,06% no número de nódulos e massa seca de nódulos por planta. No entanto, apesar de a inoculação com rizóbio ter sido, em média, 12,31% menos eficiente que a fertilização mineral para produtividade de grãos, resultados promissores para o caráter em condições de FBN foram identificados quando o feijão-comum foi cultivado na estação da seca, sob sistema de plantio direto, em solos de textura argilosa, baixa acidez e alto teor de matéria orgânica.

Além dos fatores já mencionados, o ciclo curto da cultura também pode influenciar no desempenho da associação entre a planta e a bactéria. Em geral, os genótipos tardios, apresentam melhores taxas de nodulação que os precoces, uma vez que estes não têm tempo suficiente para o acúmulo satisfatório de biomassa, que poderia servir como fonte adequada de fotoassimilados para os nódulos, o que resulta em menores quantidades de nitrogênio fixado (Kamfwa et al., 2015). No entanto, em estudo realizado por Andraus et al. (2016), as cultivares de ciclo precoce e semi-precoce, quando inoculadas com *R. tropici*, mantiveram seus nódulos ativos entre 19 a 47 dias após a emergência, três dias a mais que as cultivares de ciclo regular.

Em geral, observam-se grandes variações nos resultados das pesquisas relacionadas à FBN em feijão-comum, o que aponta a inconsistência da eficiência simbiótica na cultura (Coelho et al., 2021). Neste sentido, são necessários não apenas estudos voltados a seleção de cepas de rizóbio mais eficientes em simbiose, mas também de linhagens de feijão-comum melhor adaptadas ao processo de fixação biológica, uma vez que a identificação de linhagens melhoradas responsivas à fixação pode possibilitar o seu uso direto pelos agricultores e também facilitar a incorporação dessa característica por meio de cruzamento (Pereira et al., 2015).

2.4 MELHORAMENTO GENÉTICO PARA FBN NO FEIJÃO-COMUM

Os programas de melhoramento do feijão-comum no Brasil estão predominantemente concentrados no setor público de pesquisa (Lemos et al., 2020). Dentre as instituições públicas que atuam diretamente com o melhoramento da cultura, citam-se a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), o Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), a Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), o Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-PR) e as Universidades Federais de Lavras (UFLA) e Viçosa (UFV). Empresas privadas como a Agropecuária Terra Alta e a Agro Norte Pesquisa e Sementes também têm se destacado no desenvolvimento de cultivares com caracteres agronômicos e de mercado desejáveis.

A produtividade de grãos é o caráter de maior importância para a cultura e o mais priorizado pelos programas de melhoramento, pois está relacionado à quantidade de produto vendido e define o retorno financeiro aos participantes da cadeia de produção (Pereira et al., 2019). Ao longo dos anos, os programas de melhoramento do feijão-comum desenvolvidos por instituições públicas, alcançaram ganhos genéticos consideráveis para o caráter (Chiorato et al., 2010; Faria et al., 2013; Barili et al., 2016; Faria et al., 2017; Lemos et al., 2020), o que garantiu o potencial produtivo de mais de 3900 kg ha⁻¹ das cultivares recomendadas (Souza et al., 2019; Melo et al., 2022; Pereira et al., 2022). Além da produtividade de grãos, caracteres agronômicos, como a arquitetura de plantas, ciclo, resistência às principais doenças da cultura, e aqueles relacionados à qualidade dos grãos, como o teor de nutrientes e fibras, tempo de cozimento e aparência, também são importantes para a comercialização de cultivares (Pereira et al., 2019) e têm sido priorizados pelos programas de melhoramento.

No entanto, historicamente, um aspecto que não foi trabalhado pelos programas de melhoramento do feijão-comum foi a FBN, o que resultou em avanços modestos para esta leguminosa (Ferreira et al., 2013; Coelho et al., 2021). No Brasil, os estudos com FBN no feijão-comum tiveram início na década de 1960 (Döbereiner, 1966; Franco e Döbereiner, 1967). Desde essa época, já era relatado que o feijão-comum não respondia satisfatoriamente à inoculação com rizóbio em condições de campo, muito devido a ausência de especificidade hospedeira (Franco e Döbereiner, 1967). Com os estudos posteriores, ficou evidente que os resultados variáveis para a cultura são consequências de diversos fatores, como o seu curto ciclo (Barradas e Hungria, 1989), a alta população de estirpes nativas de rizóbios capazes de nodular o feijoeiro (Vargas et

al., 2000) e a sensibilidade da simbiose a altas temperaturas e baixa umidade do solo (Hungria e Vargas, 2000).

Porém, apesar da identificação de estirpes de rizóbios (*Rhizobium tropici*) eficientes, competitivas e tolerantes a estresses abióticos (Hungria et al., 2000; Hungria et al., 2003), até hoje, apenas uma cultivar foi lançada como de alta capacidade simbiótica e produtividade de grãos no Brasil. A cultivar de grãos pretos Ouro Negro, foi lançada no início dos anos de 1990, sendo recomendada para plantio na safra de inverno, nos estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro (Henson et al., 1993). Assim, durante muitos anos, os melhoristas de plantas desconsideraram a potencialidade da FBN para a cultura, selecionando linhagens por seu rendimento em solos férteis, com aplicações de elevadas doses de fertilizante mineral nitrogenado (Ferreira et al., 2013), o que reduz a nodulação e a eficiência do rizóbio (Jiang et al., 2020; Sousa et al., 2022).

Quando as plantas são cultivadas em solos com alta disponibilidade de nitrogênio, é provável que os genótipos com capacidade de simbiose reduzida apresentem maiores rendimentos, uma vez que conseguem obter nitrogênio suficiente do solo sem precisar alocar fotoassimilados para o desenvolvimento da simbiose com os rizóbios (Liu et al., 2020). Por esta razão, o ideal seria que todas as etapas de melhoramento fossem realizadas em solos cuja principal fonte de nitrogênio fosse proveniente da FBN. Porém, a criação de programas de melhoramentos específicos demanda tempo e recursos, por isso, até o momento, não há disponibilidade de cultivares atuais de feijão-comum desenvolvidas especialmente para essa finalidade aos agricultores brasileiros (Dias et al., 2020).

Além disso, um dos principais fatores que fazem com que a seleção para FBN não seja realizada rotineiramente nos programas de melhoramento é a sua fenotipagem trabalhosa e cara, especialmente quando é usado o método do isótipo ^{15}N para obtenção da quantidade de nitrogênio derivado da atmosfera (Kamfwa et al., 2015; Nagpal et al., 2023). Vários caracteres de herança complexa, incluindo nodulação, fotossíntese, acúmulo de biomassa e partição de fotoassimilados para os nódulos estão envolvidos na FBN. Esses caracteres são controlados por muitos genes significativamente afetados pelo ambiente, o que dificulta o melhoramento genético para FBN (Kamfwa et al., 2015).

Todos esses fatores fazem com que o feijão-comum seja uma das leguminosas de menor eficiência simbiótica. Por exemplo, de 62 a 94% do N total em uma planta de soja, lentilha, amendoim e ervilha é derivado da FBN; 75% em feijão-fava; 54 a 58% em feijão-caupi, feijão-guandu e grão-de-bico; e apenas cerca de 39% em feijão-comum

(Dwivedi et al., 2015). Porém, com a constante busca por alternativas sustentáveis e econômicas, o melhoramento genético para FBN no feijão-comum tem ganhado força e conquistado resultados positivos. Diversos estudos têm apontado a existência de variabilidade genética para FBN na cultura (Pereira et al., 2015; Heilig et al., 2017b; Kamfwa et al., 2019; Wilker et al., 2019; Dias et al., 2020; Pacheco et al., 2020; Reinprecht et al., 2020), até mesmo sob condições ambientais adversas, como deficiência hídrica (Polania et al., 2016; Farid et al., 2017) e alta salinidade do solo (Faghire et al., 2013), o que ressalta a viabilidade de programas voltados ao desenvolvimento de linhagens de maior capacidade simbiótica.

Parte da variabilidade genética existente no feijão-comum é considerada inexplorada em sua forma silvestre e poderia ser utilizada para melhorar e aumentar a diversidade em sua forma domesticada (Gioia et al., 2019). Em estudo realizado por Ferreira et al. (2010), avaliando 377 genótipos silvestres de feijão-comum, foi constatado que 70%, 33% e 13% dos genótipos em análise, apresentaram maior peso relativo, peso seco e número de nódulos, respectivamente, em relação a cultivar Ouro Negro, desenvolvida para alta resposta à FBN (Henson et al., 1993). Já Wilker et al. (2019), compararam o desempenho de variedades tradicionais com o de cultivares atuais de feijão-comum. Conforme os autores, cinco genótipos tradicionais fixaram mais de 60% de seu nitrogênio da atmosfera. Além disso, a produtividade de grãos não foi significativamente diferente entre os genótipos, o que sugere que incorporar variedades tradicionais em programas de melhoramento modernos não traria impacto negativo no rendimento de grãos.

A identificação de genótipos já disponíveis no mercado ou em fases finais de programas de melhoramento com alta capacidade de fixação de nitrogênio, também pode ser uma estratégia eficaz para recomendação de cultivares em curto e médio prazo (Pereira et al., 2015). Dias et al. (2020) avaliaram o desempenho para FBN de 15 linhagens elite e cultivares de feijão-comum preto inoculadas com *R. tropici* ou adubadas com fertilizante nitrogenado. De acordo com os autores, as cultivares BRS FP403 e BRS Esteio apresentaram alta produtividade, além de alta adaptabilidade e estabilidade nos dois sistemas de suprimento de nitrogênio. Além disso, a cultivar BRS Campeiro e a linhagem CNFP 15177 apresentaram elevada nodulação, sendo indicadas como genitoras na formação de populações base em programas de melhoramento para FBN.

A seleção de genitores promissores, que apresentem genes ou complexos de genes desejáveis é importante em qualquer programa de melhoramento. Dentre as

ferramentas existentes para identificação desses indivíduos, estão os cruzamentos dialélicos, que permitem a recombinação de alelos favoráveis de diferentes genitores, aumentando as chances de ocorrência de genótipos superiores para caracteres alvo, nas populações segregantes (Ferreira et al., 2018). No feijão-comum, os cruzamentos dialélicos têm sido um dos métodos mais utilizados para acessar as capacidades gerais e específicas de combinação de genitores e híbridos, para diversos caracteres (Ferreira et al., 2018; Moura et al., 2018; Di prado et al., 2019; Torres et al., 2021).

No entanto, estudos atuais envolvendo análise dialélica para caracteres relacionados à FBN ou genótipos avaliados em condições de inoculação com rizóbio, não foram encontrados na literatura. Franco et al. (2001), avaliaram a capacidade de combinação para nodulação de dez híbridos obtidos a partir do cruzamento entre genitores andinos e mesoamericanos. De acordo com os autores, tanto os efeitos gênicos aditivos como não aditivos estão envolvidos na nodulação do feijão-comum oriundo do cruzamento entre diferentes pools gênicos, sendo aconselhável que a seleção para nodulação seja feita nas gerações com maior grau de endogamia. Já Pereira et al. (1993), avaliaram a capacidade de combinação para número de nódulos de 45 híbridos de feijão-comum e concluíram que a ação gênica aditiva foi predominantemente importante para o número de nódulos e que os genitores transmitem seu mérito genético para suas progênes, conforme sua capacidade de nodulação.

No feijão-comum, a maioria dos caracteres de importância, assim como a FBN, apresentam herança quantitativa. Dessa forma, para realizar a seleção de genótipos que apresentem potencial de uso em programas de melhoramento, é preciso estimar os efeitos genéticos e ambientais que atuam na expressão desses caracteres, o que pode ser feito por meio da estimação de parâmetros genéticos e seus componentes da variância (Vencovsky e Barriga, 1992; Cruz et al., 2012). A partir dessa abordagem, é possível quantificar a fração herdável da variabilidade fenotípica de uma população, determinando o método mais adequado para condução dos genótipos, além do ganho esperado com a seleção (Ramalho et al., 2012).

Em relação à herdabilidade dos caracteres relacionados à FBN, estudos apontam valores de baixos a moderadamente altos (Bliss, 1993; Pereira et al., 1993; Farid et al., 2017), principalmente devido à alta influência do ambiente e da interação de genótipos com ambientes sobre estes caracteres. Em trabalho realizado por Farid et al. (2017), a herdabilidade de alguns caracteres foi avaliada em uma população de 140 linhagens recombinantes de feijão-comum, desenvolvidas a partir do cruzamento entre

genótipos de alto e baixo potencial de FBN. De acordo com os autores, a herdabilidade do caráter porcentagem de nitrogênio total fixado da atmosfera foi de 48% em ambiente com umidade adequada e de apenas 12% em ambiente seco, o que aponta maior eficiência de seleção para FBN em ambientes sem restrição hídrica.

Os principais caracteres utilizados para seleção de genótipos de maior eficiência simbiótica são aqueles relacionados à nodulação, como número, peso e atividade dos nódulos e ao acúmulo de nitrogênio, como conteúdo de nitrogênio na parte aérea das plantas e quantidade de nitrogênio derivado da atmosfera (Ndfa) (Dias et al., 2017). Existem vários métodos para mensuração da Ndfa, como a técnica da abundância natural de ^{15}N , diluição isotópica de ^{15}N , redução de acetileno, etc., que apesar de constituírem a forma mais precisa, apresentam alto custo, devido a necessidade de equipamentos específicos para as análises (Fonseca-López et al., 2020).

Segundo Tsutsumi et al. (2015), uma das principais dificuldades das avaliações relacionadas à nodulação, ocorre devido as análises serem destrutivas, o que dificulta a seleção direta. Uma das possíveis soluções indicadas pelos autores são as correlações entre caracteres, nos quais pode-se utilizar, por exemplo, o peso e a produtividade de grãos como indicadores da eficiência simbiótica. Estudos têm mostrado a existência de correlações positivas entre caracteres de produção e FBN no feijão-comum (Ramaekers et al., 2013; Bertoldo et al., 2015; Kamfwa et al., 2015; Heilig et al., 2017b; Barbosa et al., 2018). No entanto, Farid et al. (2017) e Reinprecht et al. (2020), ressaltam que a seleção para ambos os caracteres deve ser realizada simultaneamente, devido as correlações baixas ou ausentes. Esses resultados contrários ressaltam a necessidade de mais estudos para verificar a relação existente entre a FBN e o rendimento de grãos.

O rápido desenvolvimento da genômica nos últimos anos também tem garantido a oportunidade de se avaliar a expressão e função de milhares de genes, incluindo aqueles que desempenham relação com o processo de FBN. Os avanços em técnicas moleculares resultaram no lançamento do genoma de referência do feijão-comum (Schmutz et al., 2014), na criação de um chip de genotipagem de polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) (Song et al., 2015) e em protocolos eficazes de genotipagem por sequenciamento (Schröder et al., 2016), que permitiram a caracterização genética de germoplasmas e a adoção de métodos de melhoramento moleculares. A utilização de marcadores moleculares, por exemplo, pode auxiliar na seleção indireta para FBN e contornaria os desafios da seleção direta, o que pode contribuir para o desenvolvimento mais rápido de cultivares de feijão-comum melhoradas (Kamfwa et al., 2015).

Em relação ao mapeamento de QTLs (*Quantitative Trait Loci*) para FBN, Kamfwa et al. (2019) encontraram dez QTLs associados à biomassa da parte aérea, porcentagem de nitrogênio derivado da atmosfera, nitrogênio total derivado da atmosfera e porcentagem de nitrogênio na semente. Alguns dos QTLs identificados no estudo se sobrepuseram ou ficaram próximos de regiões genômicas para FBN anteriormente relatadas para o feijão-comum (Kamfwa et al., 2015; Heilig et al., 2017a; Kamfwa et al., 2017). Isso sugere que os genes subjacentes a estas regiões genômicas tem expressão estável para FBN em diferentes backgrounds genéticos e ambientes e têm potencial para serem utilizados na seleção assistida por marcadores moleculares.

Na literatura, diversos trabalhos sobre a influência do nitrogênio mineral na FBN do feijão-comum podem ser encontrados (Barros et al., 2018; Jiang et al., 2020; Pacheco et al., 2020; Reinprecht et al., 2020; Sousa et al., 2022). A maioria dos estudos ressalta que a fertilização nitrogenada promove rendimento de grãos superior à inoculação com rizóbio, além de provocar um efeito inibitório na nodulação conforme o aumento de sua dosagem. Vários trabalhos avaliando o desempenho de linhagens elite e cultivares em ambientes de FBN também são encontrados (Pereira et al., 2015; Polania et al., 2016; Heilig et al., 2017b; Dias et al., 2020; Pacheco et al., 2020). No entanto, esses genótipos foram desenvolvidos e selecionados em solos adubados com nitrogênio mineral, e, para melhor expressão da FBN, o ideal seria que essa fonte de nitrogênio fosse utilizada durante o processo de desenvolvimento das linhagens. Estudos avaliando o desempenho de linhagens recombinantes (RILs) também podem ser encontrados (Ramaekers et al., 2013; Heilig et al., 2017a; Kamfwa et al., 2017; Kamfwa et al., 2019), muitos deles, com o objetivo principal de realizar análises moleculares para identificação de genes úteis no melhoramento para FBN.

No entanto, poucos estudos mostrando o desenvolvimento de linhagens de feijão-comum em sistemas exclusivamente dependentes de FBN são identificados na literatura. Deve-se buscar tratar a fixação biológica como uma característica de interesse no melhoramento genético, buscando resultados consistentes que viabilizem a recomendação da técnica para as condições de cultivo brasileiras. Neste sentido, o programa de melhoramento do feijão-comum desenvolvido pela Embrapa Arroz e Feijão, tem buscado desenvolver cultivares recomendadas para sistemas de cultivo dependentes da FBN. No tópico a seguir, serão dados maiores detalhes sobre as pesquisas e resultados que vêm sendo alcançados pela Embrapa e quais as perspectivas futuras para o melhoramento para FBN no feijão-comum.

2.4.1 Melhoramento para FBN desenvolvido pela Embrapa Arroz e Feijão

A Embrapa Arroz & Feijão coordena um programa nacional para o melhoramento genético do feijão-comum, que abrange todas as regiões produtoras do país. A avaliação das linhagens desenvolvidas pelo programa é organizada em uma rede nacional que inclui estados produtores, responsáveis por mais de 90% da produção nacional. Essa rede avalia as linhagens mais promissoras em relação à produtividade de grãos, estabilidade e outros caracteres agrônomicas desejáveis, com o objetivo de desenvolver cultivares que atendam às demandas da cadeia produtiva da cultura (Faria et al., 2013).

A partir de 2007, o programa de melhoramento do feijão-comum da Embrapa Arroz e Feijão, passou a incluir os ensaios de FBN em sua rotina de pesquisa e rede de ensaios, com foco nos grupos comerciais carioca e preto. O primeiro passo, foi avaliar o desempenho dos genótipos elite do programa em sistemas de FBN. Como esses genótipos apresentam alelos favoráveis para caracteres agrônomicos de interesse, a identificação de linhagens responsivas à FBN, permitiria seu uso direto pelos agricultores e facilitaria a incorporação da característica por meio de cruzamentos.

Os primeiros experimentos foram realizados na fase de VCU (Valor de Cultivo e Uso), em quatro ambientes do Estado de Goiás, na safra de inverno de 2007/2008. Em cada ambiente, as linhagens elite e cultivares foram avaliadas para produtividade de grãos em dois experimentos lado a lado: um com adubação nitrogenada (20 kg de N ha⁻¹ no plantio e 90 kg de N ha⁻¹ na cobertura) e outro com inoculação com rizóbio. Os principais resultados para o grupo comercial carioca podem ser encontrados em Pereira et al. (2015). Conforme os autores, houve diferenças na produtividade entre as duas fontes de nitrogênio, com uma produtividade de grãos maior obtida através da fertilização mineral nitrogenada. Apesar disso, foram identificados genótipos com produtividade semelhante nos dois sistemas de fornecimento de nitrogênio.

Os experimentos lado a lado foram repetidos nos ensaios de VCU dos anos de 2011 e 2012, avaliando-se 19 linhagens para o grupo carioca e 15 para o grupo preto, em Goiás, Paraná e Distrito Federal, nas safras das águas, de inverno e seca, totalizando uma combinação de onze ambientes. Nesses experimentos, além da produtividade de grãos, também foi avaliada a resistência a doenças como a antracnose e mancha angular. Para avaliação dos caracteres de nodulação, mais dois ensaios lado a lado com os mesmos genótipos foram conduzidos na safra das águas de 2013 e de inverno de 2014.

Os ensaios foram realizados para os grupos comerciais preto e carioca e os resultados podem ser visualizados em Dias (2017) e Dias et al. (2020). Conforme os autores, assim como observado nos VCU de 2007/2008, as linhagens apresentaram melhor produtividade de grãos quando avaliadas com adubação mineral nitrogenada. No entanto, as fontes de nitrogênio não influenciaram na seleção dos melhores genótipos para os dois sistemas, sugerindo que as melhores linhagens selecionadas sob adubação mineral podem ser indicadas para ambientes sob inoculação. A inoculação com rizóbio proporcionou maiores índices de nodulação nos genótipos avaliados, no entanto, esta maior nodulação não resultou em maior produtividade de grãos, sugerindo a necessidade de formar populações que combinassem genitores produtivos com genitores de boa nodulação, e realizar a seleção sob inoculação.

Como variabilidade genética suficiente não foi identificada nos ensaios de VCUs, optou-se por recorrer aos ensaios preliminares, que estão em fase anterior ao VCU e continham um maior número de genótipos. Assim, em 2012, as linhagens que compunham os ensaios preliminares dos grupos comerciais preto e carioca foram avaliadas apenas sob inoculação, sendo encaminhadas para os ensaios avançados aquelas de melhor desempenho. Os ensaios avançados foram conduzidos da safra de inverno de 2013 até a safra da seca de 2016, com 12 genótipos para o grupo preto e 15 para o grupo carioca, em um total de 20 ambientes com inoculação e sem adubação com nitrogênio mineral. Entretanto, nenhuma linhagem apresentou produção superior em sistema de FBN. Porém, com as informações do comportamento dos genótipos elite nos ensaios de VCUs, preliminares e avançados, em condições de inoculação, vários genitores promissores puderam ser identificados.

Paralelamente ao estudo das linhagens elite, os genótipos silvestres e os pertencentes a coleção nuclear de germoplasma da Embrapa também foram analisados. Em 2008, 377 genótipos silvestres de feijão-comum do banco ativo de germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão foram conduzidos em experimento de casa de vegetação, em Santo Antônio de Goiás - GO, para avaliação de caracteres relacionados à FBN, como número de nódulos, peso de nódulos secos e índice de nodulação. Conforme Ferreira et al. (2010), cerca de 45% dos genótipos silvestres de feijão-comum mostraram potencial para serem utilizados como fonte alelos favoráveis para FBN. Dentre eles, quatro genótipos mostraram os melhores resultados, figurando entre as maiores médias de número de nódulos, peso de nódulos secos e índice de nodulação.

De setembro de 2011 a março de 2012, um grupo de 879 genótipos foi avaliado, sendo 261 provenientes da coleção nuclear de feijão-comum do México e 618 da coleção nuclear do Centro Nacional de Agricultura Tropical (CIAT, Colômbia). Ambas as coleções, continham materiais Mesoamericanos e Andinos e estão atualmente mantidos no Banco Ativo de Germoplasma de Feijão-comum da Embrapa. Dos 879 genótipos, 116 com maiores índices de nodulação foram selecionados e avaliados em uma segunda fase, de agosto a outubro de 2012. Ambos os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação, em Santo Antônio de Goiás – GO para avaliação do número de nódulos e peso seco e específico de nódulos. De acordo com Knupp (2015) e Knupp et al. (2017), foi encontrada grande variabilidade entre os genótipos dos dois pools gênicos, com muitos mostrando médias superiores as da cultivar Ouro Negro, utilizada como referência. Ao todo, foram selecionados 26 genótipos promissores, por sua alta nodulação e estabilidade de desempenho entre os ensaios realizados.

A partir de 2014, começaram os cruzamentos entre os genótipos identificados como promissores para FBN. Foram realizados cruzamentos entre linhagens elite (elite x elite), entre linhagens elite e genótipos silvestres (elite x silvestre) e entre linhagens elite e genótipos da coleção nuclear (elite x coleção nuclear), para os grupos comerciais carioca e preto. O objetivo principal era desenvolver populações que seriam conduzidas, desde as primeiras gerações, em condições de inoculação com rizóbio, visando favorecer a expressão da FBN.

Os cruzamentos elite x elite para o grupo comercial preto compõe o material genético do presente estudo. Para obtenção das populações segregantes foram realizados cruzamentos em esquema dialélico completo, com oito genitores para o grupo preto e nove para o grupo carioca. As populações foram conduzidas nas gerações F₂ até F₄ pelo método *bulk* em quatro ambientes em Santo Antônio de Goiás – GO e Brasília-DF, nos anos de 2015, 2016 e 2017. As populações mais promissoras foram utilizadas para obtenção de linhagens, que foram avaliadas em experimentos denominados testes de linhagens, realizados a partir da coleta de plantas individuais das melhores populações, na geração F₅. As linhagens obtidas foram avaliadas para produtividade de grãos, por dois anos (inverno de 2021 e 2022), em Santo Antônio de Goiás – GO, em solos cuja principal fonte de nitrogênio foi a FBN. Os genótipos com melhor desempenho no teste de linhagens serão encaminhados para os ensaios avançados, em múltiplos ambientes.

Em 2015, foram realizados cruzamentos entre genótipos elite x silvestre, seguidos de um retrocruzamento com o genitor elite, para obtenção das populações

segregantes para os grupos carioca e preto. As populações foram conduzidas das gerações F₂ até F₄ pelo método *bulk*. Na geração F₄, em 2018, as melhores populações foram selecionadas para coleta de plantas individuais e obtenção das linhagens F_{4:5}, que foram encaminhadas para os testes de linhagens, conduzidos nos anos de 2019 e 2020. Todos os ensaios foram realizados em Santo Antônio de Goiás - GO, na safra de inverno, sem adubação mineral nitrogenada e com inoculação com rizóbios, com avaliações da produtividade de grãos, massa de 100 grãos e aspecto visual dos grãos. Os genótipos com melhor desempenho nos testes de linhagens foram encaminhados para os ensaios avançados em seis ambientes nos Estados de Goiás e Paraná, nos anos de 2021 e 2022.

Os resultados dos ensaios avançados das linhagens provenientes do cruzamento elite x silvestre para o grupo comercial carioca foram apresentados por Caetano (2023). Conforme o autor, o fornecimento de nitrogênio exclusivamente por FBN não conseguiu desenvolver linhagens, oriundas de germoplasma silvestre, mais produtivas que as cultivares desenvolvidas em sistema com uso exclusivo de nitrogênio mineral e as linhagens oriundas de germoplasma silvestre serão indicadas como genitoras para formação de novas populações base.

A perspectiva é que, destes ensaios avançados, algumas linhagens sejam selecionadas para os ensaios de VCU, com possibilidade de se tornarem cultivares de alta produtividade de grãos, recomendadas para sistemas de FBN. A partir dos detalhes apresentados, nota-se o esforço experimental e de pesquisa que vem sendo feito pelo programa de melhoramento do feijão-comum da Embrapa Arroz e Feijão, com o objetivo de tornar a FBN prática difundida na produção da cultura. A conquista de resultados positivos, sem comprometer os ganhos em produtividade, beneficiaria pequenos e grandes produtores, com a redução direta dos custos de produção, além do meio ambiente, com a diminuição dos danos provocados pelo uso do nitrogênio mineral.

2.5 REFERÊNCIAS

ACOSTA-GALLEGOS, J. A.; KELLY, J. D.; GEPTS, P. Prebreeding in common bean and use of genetic diversity from wild germplasm. **Crop Science**, v. 47, n. 3, p. 44-59, 2007.

ALEXANDRE, A.; OLIVEIRA, S. Response to temperature stress in rhizobia. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 39, n. 3, p. 219-228, 2013.

- BARBOSA, N.; PORTILLA, E.; BUENDIA, H. F.; RAATZ, B.; BEEBE, S.; RAO, I. Genotypic differences in symbiotic nitrogen fixation ability and seed yield of climbing bean. **Plant and Soil**, v. 428, n. 1, p. 223-239, 2018.
- BARILI, L. D.; MOURA, L. M.; PAULA, R. G.; SILVA, F. F.; CARNEIRO, J. E. S. Genetic progress resulting from forty-three years of breeding of the carioca common bean in Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, n. 3, gmr.15038523, 2016.
- BARRADAS, C. A.; HUNGRIA, M. Seleção de estirpes de *Rhizobium* para o feijoeiro. I – Precocidade para nodulação e fixação de nitrogênio. **Turrialba**, v. 39, n. 2, p. 236-242, 1989.
- BARROS, R. L. N.; OLIVEIRA, L. B.; MAGALHÃES, W. B.; MÉDICI, L. O.; PIMENTEL, C. Interaction of biological nitrogen fixation with sowing nitrogen fertilization on common bean in the two seasons of cultivation in Brazil. **Journal of Plant Nutrition**, v. 41, n. 6, p. 774-781, 2018.
- BERTOLDO, J. G.; MEDEIROS, C. M. O.; FAVRETO, R.; SILVA, R. P.; BRAGA, R. L.; BECK, D. K.; EICH, F. Performance de genótipos de feijão para o caráter fixação biológica de nitrogênio conduzidos em sistemas de cultivo em dois ambientes. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 21, n. 2, p. 13-22, 2015.
- BINOTTI, F. F. S.; ARF, O.; CARDOSO, E. D.; SÁ, M. E.; BUZETTI, S.; NASCIMENTO, V. Fontes e doses de nitrogênio em cobertura no feijoeiro de inverno irrigado no sistema de plantio direto. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 5, p. 770-778, 2010.
- BLISS, F. A. Breeding common bean for improved biological nitrogen fixation. **Plant and Soil**, v. 152, n. 1, p. 71-79, 1993.
- CAETANO, J. P. M. **Estabilidade e potencial produtivo de linhagens de feijão-comum desenvolvidas sob fixação biológica de nitrogênio avaliadas em multi-ambientes**. 2023. 69 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2023.
- CARDILLO, B. E. S.; OLIVEIRA, D. P.; SOARES, B. L.; MARTINS, F. A. D.; RUFINI, M.; SILVA, J. S.; NETO, G. G. F.; ANDRADE, M. J. B.; MOREIRA, F. M. S. Nodulation and yields of common bean are not affected either by fungicides or by the method of inoculation. **Agronomy Journal**, v. 111, n. 2, p. 694-701, 2019.
- CARVALHO, M. C. S.; SILVEIRA, P. M. **Cultivo do Feijão: Adubação**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 2023. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/feijao>. Acesso em: 12 fev. 2024.
- CHAGAS, E.; ARAÚJO, A. P.; ALVES, B. J. R.; TEIXEIRA, M. G. Seeds enriched with phosphorus and molybdenum improve the contribution of biological nitrogen fixation to common bean as estimated by N isotope dilution. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 4, p. 1093-1101, 2010.
- CHIORATO, A. F.; CARBONELL, S. A. M.; VENCOVSKY, R.; FONSECA JÚNIOR, N. S.; PINHEIRO, J. B. Genetic gain in the breeding program of common beans at IAC from 1989 to 2007. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 10, p. 329-336, 2010.

COELHO, L. G. F.; BOMFIM, C. A.; MENDES, I. C.; VALE, H. M. M.; REIS JÚNIOR, F. B. **A inoculação do feijoeiro no Brasil**: Alternativas para aumentar a produtividade utilizando microrganismos promotores do crescimento vegetal. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2021. 48p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 384).

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira – grãos**: quarto levantamento, janeiro 2024 – safra 2023/2024. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 2024. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras>. Acesso em: 09/02/2024.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, v. 1, 2012. 514 p.

DEVI, M. J.; SINCLAIR, T. R.; BEEBE, S. E.; RAO, I. M. Comparison of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes for nitrogen fixation tolerance to soil drying. **Plant Soil**, v. 364, n. 1, p. 29-37, 2013.

DI PRADO, P. R. C.; FARIA, L. C.; SOUZA, T. L. P. O.; MELO, L. C.; MELO, P. G. S.; PEREIRA, H. S. Genetic control and selection of common bean parents and superior segregant populations based on high iron and zinc contents, seed yield and 100-seed weight. **Genetics and Molecular Research**, v. 18, n. 1, gmr18146, 2019.

DIAS, P. A. S. **Potencial genético de linhagens elite de feijoeiro-comum para fixação biológica de nitrogênio**. 2017. 106 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017.

DIAS, P. A. S.; MELO, P. G. S.; PEREIRA, H. S.; FERREIRA, E. P. B. Automated and estimation methods to count nodule number in common bean. **Australian Journal of Crop Science**, v. 11, n. 8, p. 968-973, 2017.

DIAS, P. A. S.; MELO, P. G. S.; MELO, L. C.; SOUZA, T. L. P. O.; FARIA, L. C.; FERREIRA, E. P. B.; PEREIRA, H. S. Production and disease resistance of elite black bean lines previously selected using mineral nitrogen fertilization cultivated with natural versus artificial nitrogen supplementation. **Genetics and Molecular Research**, v. 19, n. 2, p. 1-14, 2020.

DIONÍSIO, J. A.; PIMENTEL, I. C.; SIGNOR, D. Isolamento de rizóbios de raízes de leguminosas. In: DIONÍSIO, J. A.; PIMENTEL, I. C.; SIGNOR, D.; PAULA, A. M.; MACEDA, A.; MATANNA, A. L. **Guia prático de biologia do solo**. 1. ed. Curitiba: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2016, v. 1, cap. 10, p. 60-66.

DÖBEREINER, J. Evaluation of nitrogen fixation in legumes by the regression of total plant nitrogen with nodule weight. **Nature**, v. 210, n. 1, p. 850-852, 1966.

DWIVEDI, S. L.; SAHRAWAT, K. L.; UPADHYAYA, H. D.; MENGONI, A.; GALARDINI, M.; BAZZICALUPO, M.; BIONDI, E. G.; HUNGRIA, M.; KASCHUK, G.; BLAIR, M. W.; ORTIZ, R. Advances in host plant and rhizobium genomics to enhance symbiotic nitrogen fixation in grain legumes. **Advances in Agronomy**, v. 129, n. 1, p. 1-116, 2015.

EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO. **Dados de conjuntura da produção de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) no Brasil (1985 - 2022).** Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão. 2023. Disponível em: <<https://www.cnpaf.embrapa.br/socioeconomia/index.htm>>. Acesso em: 04 abr. 2024.

FAGHIRE, M.; MOHAMED, F.; TAOUFIQ, K.; FAGHIRE, R.; BARGAZ, A.; MANDRI, B.; OUFDUO, K.; LAURY, A.; DREVON, J.; GHOULAM, C. Genotypic variation of nodules' enzymatic activities in symbiotic nitrogen fixation among common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes grown under salinity constraint. **Symbiosis**, v. 60, n. 3, p. 115-122, 2013.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. The global economy of pulses. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2021. Disponível em: <http://www.fao.org/3/i7108en/i7108en.pdf>. Acesso em: 15 out. 2023.

FARIA, L. C.; MELO, P. G. S.; PEREIRA, H. S.; DEL PELOSO, M. J.; BRÁS, A. J. B. P.; MOREIRA, J. A. A.; CARVALHO, H. W. L.; MELO, L.C. Genetic progress during 22 years of improvement of carioca-type common bean in Brazil. **Field Crops Research**, v. 142, p. 68-74, 2013.

FARIA, L. C.; MELO, P. G. S.; PEREIRA, H. S.; MELO, L. C. Genetic gain in common bean with black grain by indirect estimation methods. **Crop Science**, v. 57, n. 3, p. 1308-1314, 2017.

FARID, M.; EARL, H. J.; PAULS, K. P.; NAVABI, A. Response to selection for improved nitrogen fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Euphytica**, v. 213, n. 4, p. 2-13, 2017.

FERREIRA, E. P. B.; BARBOSA, L. H. A.; KNUPP, A. M.; MATA, W. M.; WENDLAND, A.; DIDONET, A. D.; MELO, L. C.; DEL PELOSO, M. J. Identification of high nodulation efficiency among wild genotypes of common beans. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 53, n. 1, p.170-171, 2010.

FERREIRA, E. P. B.; MERCANTE, F. M.; HUNGRIA, M.; MENDES, I. C.; ARAÚJO, J. L. S.; FERNANDES JÚNIOR, P. I.; ARAÚJO, A. P. Contribuições para melhoria da eficiência da fixação biológica de nitrogênio no feijoeiro comum no Brasil. In: ARAÚJO, A. P.; ALVES, B. J. R. (Ed.). **Tópicos em Ciência do Solo**. 1. ed. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2013. v. 8, cap. 6, p. 251-292.

FERREIRA, L. U.; MELO, P. G. S.; VIEIRA, R. F.; LOBO JÚNIOR, M.; PEREIRA, H. S.; MELO, L. C.; SOUZA, T. L. P. O. Combining ability as a strategy for selection common bean parents and populations resistant to white mold. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 18, n. 1, p. 276-283, 2018.

FIGUEIREDO, M. A.; OLIVEIRA, D. P.; SOARES, B. L.; MORAIS, A. R.; MOREIRA, F. M. S.; ANDRADE, M. J. B. Nitrogen and molybdenum fertilization and inoculation of common bean with *Rhizobium* spp. In two oxisols. **Acta Scientiarum**, v. 38, n. 1, p. 85-92, 2016.

FONSECA, G. G.; OLIVEIRA, D. P.; SOARES, B. L.; FERREIRA, P. A. A.; TEIXEIRA, C. M.; MARTINS, F. A. D.; MOREIRA, F. M. S.; ANDRADE, M. J. B.

Resposta de cultivares de feijoeiro-comum à inoculação das sementes com duas estirpes de rizóbio. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 6, p. 1778-1787, 2013.

FONSECA-LÓPEZ, D.; QUILA, N. J. V.; BALAGUERA-LÓPEZ, H. E. Techniques applied in agricultural research to quantify nitrogen fixation: a systematic review. **Ciencia y Tecnología Agropecuaria**, v. 21, n. 1, p. 32-50, 2020.

FRANCO, A. A.; DÖBEREINER, J. Especificidade hospedeira na simbiose com *Rhizobium* – feijão e influência de diferentes nutrientes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 2, n. 1, p. 467-474, 1967.

FRANCO, M. C.; CASSINI, S. T.; OLIVEIRA, V. R.; VIEIRA, C. TSAI, S. M.; CRUZ, C. D. Combining ability for nodulation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes from Andean and Middle American gene pools. **Euphytica**, v. 118, n. 3, p. 265-270, 2001.

FREITAS, S. M. Nitrogênio: um dilema entre produzir e poluir? **Análises e Indicadores do Agronegócio**, v. 10, n. 11, p. 1-6, 2015.

GAGE, D. J. Infection and invasion of roots by symbiotic, nitrogen-fixing rhizobia during nodulation of temperate legumes. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 68, n. 2, p. 280-300, 2004.

GARCIA, P. L.; SERMARINI, R. A.; TRIVELIN, P. C. O. Nitrogen fertilization management with blends of controlled-release and conventional urea affects common bean growth and yield during mild winters in Brazil. **Agronomy**, v. 10, n. 1935, p. 1-17, 2020.

GARG, N.; GEETANJALI. Symbiotic nitrogen fixation in legume nodules: process and signaling. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 27, n. 1, p. 59-68, 2007.

GIOIA, T.; LOGOZZO, G.; MARZARIO, S.; ZEULI, P. S.; GEPTS, P. Evolution of SSR diversity from wild types to U. S. advanced cultivars in the Andean and Mesoamerican domestications of common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Plos One**, v. 14, n. 1, e0211342, 2019.

GRANGE, L.; HUNGRIA, M.; GRAHAM, P. H.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. New insights into the origins and evolution of rhizobia that nodulate common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 39, n. 4, p. 867-876, 2007.

HEILIG, J. A.; BEAVER, J. S.; WRIGHT, E. M.; SONG, Q.; KELLY, J. D. QTL analysis of symbiotic nitrogen fixation in a black bean population. **Crop Science**, v. 57, n. 1, p. 118-129, 2017a.

HEILIG, J. A.; WRIGHT, E. M.; KELLY, J. D. Symbiotic nitrogen fixation of black and navy bean under organic production systems. **Agronomy Journal**, v. 109, n. 5, p. 2223-2230, 2017b.

HENSON, R. A.; PEREIRA, P. A. A.; CARNEIRO, J. E. S.; BLISS, F. A. Registration of 'Ouro Negro', a high dinitrogen-fixing, high yielding common bean. **Crop Science**, v. 33, n. 3, p. 644, 1993.

- HERNANDEZ-ARMENTA, R.; WIEN, H. C.; EAGLESHAM, A. R. J. Maximum temperature for nitrogen fixation in common bean. **Crop Science**, v. 29, n. 5, p. 1260-1265, 1989.
- HUNGRIA, M.; FRANCO, A. A. Effects of high temperature on nodulation and nitrogen fixation by *Phaseolus vulgaris* L. **Plant and Soil**, v. 149, n. 1, p. 95-102, 1993.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, v. 65, n. 2-3, p. 151-164, 2000.
- HUNGRIA, M.; ANDRADE, D. S.; CHUEIRE, L. M. O.; PROBANZA, A.; GUTTIERREZ-MAÑERO, F. J.; MEGÍAS, M. Isolation and characterization of new efficient and competitive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from Brazil. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 32, n. 1, p. 1515-1528, 2000.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. Benefits of inoculation of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) crop with efficient and competitive *Rhizobium tropici* strains. **Biology and Fertility of Soils**, v. 39, n. 1, p. 88-93, 2003.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica de nitrogênio para a cultura da soja**: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80 p. (Embrapa Soja. Documentos, 283).
- JIANG, Y.; MACLEAN, D. E.; PERRY, G. E.; MARSOLAIS, F.; HILL, B.; PAULS, K. P. Evaluation of beneficial and inhibitory effects of nitrate on nodulation and nitrogen fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Legume Science**, v. 2, n. 3, p. e45, 2020.
- KAMFWA, K.; CICHY, K. A.; KELLY, J. D. Genome-wide association analysis of symbiotic nitrogen fixation in common bean. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 128, n. 10, p. 1999-2017, 2015.
- KAMFWA, K.; ZHAO, D.; KELLY, J. D.; CICHY, K. A. Transcriptome analysis of two recombinant inbred lines of common bean contrasting for symbiotic nitrogen fixation. **PLoS One**, v. 12, n. 2, e0172141, 2017.
- KAMFWA, K.; CICHY, K. A.; KELLY, J. D. Identification of quantitative trait loci for symbiotic nitrogen fixation in common bean. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 132, n. 1, p. 1375-1387, 2019.
- KELLY, J. D. **The Story of Bean Breeding**. 1. ed. Michigan: Michigan State University, v. 1, 2010. 30 p.
- KINTSCHEV, M. R.; GOULART, A. C. P.; MERCANTE, F. M. Compatibilidade entre a inoculação de rizóbios e fungicidas aplicados em sementes de feijoeiro comum. **Summa Phytopathologica**, v. 40, n. 4, p. 338-346, 2014.
- KNUPP, A. M. **Seleção de genótipos Mesoamericanos e Andinos de feijoeiro em resposta à inoculação com rizóbio**. 2015. 136 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2015.

KNUPP, A. M.; FERREIRA, E. P. B.; ARAÚJO, A. P. Variability of nodulation traits in Andean and Mesoamerican common bean gene pools. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 4, p. 252-260, 2017.

LEMOS, R. C.; ABREU, A. F. B.; SOUZA, E. A.; SANTOS, J. B.; RAMALHO, M. A. P. A half century of a bean breeding program in the South and Alto Paranaíba regions of Minas Gerais. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 20, n. 2, e295420211, 2020.

LIU, J.; YU, X.; QIN, Q.; DINKINS, R. D.; ZHU, H. The impacts of domestication and breeding on nitrogen fixation symbiosis in legumes. **Frontiers in Genetics**, v. 11, n. 973, p. 1-9, 2020.

LÓPEZ-LARA, I. M.; van DER DRIFT, K. M. G. M.; van BRUSSEL, A. A. N.; HAVERKAMP, J.; LUGTENBERG, B. J. J.; THOMAS-OATES, J. E.; SPAINK, H. P. Induction of nodule primordia on *Phaseolus* and *Acacia* by lipo-chitin oligosaccharide nodulation signals from brost-host-range *Rhizobium* strain GRH2. **Plant Molecular Biology**, v. 29, n. 3, p. 465-477, 1995.

LOS, F. G. B.; ZIELINSKI, A. A. F.; WOJEICCHOWSKI, J. P.; NOGUEIRA, A.; DEMIATE, I. M. Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): whole seeds with complex chemical composition. **Current Opinion in Food Science**, v. 19, n. 1, p. 63-71, 2018.

MARTÍNEZ-ROMERO, E. Diversity of *Rhizobium-Phaseolus vulgaris* symbiosis: overview and perspectives. **Plant and Soil**, v. 252, n. 1, p. 11-23, 2003.

MARTINIANO-SOUZA, M. C.; GONÇALVES-VIDIGAL, M. C.; VALENTINI, G.; ELIAS, J. C. F.; XAVIER, L. F. S.; ARIANI, A. GEPTS, P.; COSTA, A. F. Population structure and genetic diversity in common bean accessions from Northeast Brazil. **World Journal of Advanced Research and Reviews**, v. 12, n. 1, p. 287-297, 2021.

MELO, L. C.; SOUZA, T. L. P. O.; AGUIAR, M. S.; FARIA, L. C.; COSTA, J. G. C.; TORGA, P. P.; MAGALDI, M. C. S.; SOUZA, N. P.; KNUPP, A. M.; CARVALHO, H. W. L.; ALMEIDA, V. M.; PEREIRA, H. S. BRS FC414: Common bean cultivar with high yield and commercial quality, recommended for growing under center pivot IRRIGATION. **Functional Plant Breeding Journal**, v. 4, n. 2, p. 53-58, 2022.

MERCANTE, F. M.; FRANCO, A. A. Expressão dos genes *nod* DE *Rhizobium tropici*, *R. etli*, e *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* e estabelecimento da nodulação do feijoeiro na presença de exsudatos de semente de *Mimosa flocculosa* e *Leucaena leucocephala*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, n. 2, p. 301-310, 2000.

MERCANTE, F. M.; GOI, S. R.; FRANCO, A. A. Importância dos compostos fenólicos nas interações entre espécies leguminosas e rizóbio. **Revista Universidade Rural: Série Ciências da Vida**, v. 22, n. 1, p. 65-81, 2002.

MORAES, E. S.; MENELAU, A. S. Análise do mercado do feijão comum. **Revista de Política Agrícola**, v. 26, n. 1, p. 81-92, 2017.

MOREIRA, G. B. L.; PEGORARO, R. F.; VIEIRA, N. M. B.; BORGES, I.; KONDO, M. K. Desempenho agrônômico do feijoeiro com doses de nitrogênio em semeadura e

cobertura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 8, p. 818-823, 2013.

MOURA, L. M.; ANJOS, R. S. R.; BATISTA, R. O.; VALE, N. M.; CRUZ, C. D.; CARNEIRO, J. E. S.; MACHADO, J. C.; CARNEIRO, P. C. S. Combining ability of common bean parents in different seasons, locations and generations. **Euphytica**, v. 214, n. 181, p. 1-13, 2018.

MOURA, F. T.; RIBEIRO, R. A.; HELENE, L. C. F.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. So many rhizobial partners, so little nitrogen fixed: The intriguing symbiotic promiscuity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) **Symbiosis**, v. 86, n. 1, p. 169-185, 2022.

NAGPAL, S.; SIRARI, A.; SHARMA, P.; SINGH, S.; MANDAHAL, K. S.; SINGH, H.; SINGH, S. Marker trait association for biological nitrogen fixation traits in an interspecific cross of chickpea (*Cicer arietinum* x *Cicer reticulatum*). **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 29, n. 7, p. 1005-1018, 2023.

OLIVEIRA, D. P.; SOARES, B. L.; MARTINS, F. A. D.; FRANCESCHINI, L. A.; CARDILLO, B. E. S.; RUFINI, M.; MORAIS, A. R.; MOREIRA, F. M. S.; ANDRADE, M. J. D. Viability of liquid medium-inoculation of *Rhizobium etli* in planting furrows with common bean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 53, n. 3, p. 398-398, 2018.

PACHECO, R. S.; BODDEY, R. M.; ALVES, B. J. R.; FERREIRA, E. P. B.; STRALIOTTO, R.; ARAÚJO, A. P. Differences in contribution of biological nitrogen fixation to yield performance of common bean cultivars as assessed by the ¹⁵N natural abundance technique. **Plant Soil**, v. 454, n. 1, p. 327-341, 2020.

PEREIRA, P. A. A.; MIRANDA, B. D.; ATTEWELL, J. R.; KMIĘCIK, K. A.; BLISS, F. A. Selection for increased nodule number in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) **Plant and Soil**, v. 148, n. 2, p. 203-209, 1993.

PEREIRA, H. S.; MELO, L. C.; FARIA, L. C.; FERREIRA, E. P. B.; MERCANTE, F. M.; WENDLAND, A.; SOUZA, T. L. P. O. Common bean elite lines cultivated under nitrogen fertilization and inoculation with *Rhizobium tropici*. **Ciência Rural**, v. 45, n. 12, p. 2168-2173, 2015.

PEREIRA, H. S.; ALVARES, R. C.; MELO, L. C.; COSTA, A. F.; CARVALHO, H. W. L.; FARIA, L. C.; SOUZA, T. L. P. O. Genotype by environment interaction of “carioca” seeded common bean advanced lines in northeastern Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p. 1745-1756, 2016.

PEREIRA, H. S.; MOTA, A. P. S.; RODRIGUES, L. A.; SOUZA, T. L. P. O.; MELO, L. C. Genetic diversity among common bean cultivars based on agronomic traits and molecular markers and application to recommendation of parent lines. **Euphytica**, v. 215, p. 1-16, 2019.

PEREIRA, H. S.; SOUZA, T. L. P. O.; AGUIAR, M. S.; FARIA, L. C.; COSTA, J. G. C.; MAGALDI, M. C. S.; SOUZA, N. P.; KNUPP, A. M.; GUIMARÃES, C. M.; CARVALHO, H. W. L.; ALMEIDA, V. M.; MELO, L. C. BRS FC415: Common bean

cultivar with high yield, commercial quality, slow seed coat darkening, and resistance to soil pathogens. **Functional Plant Breeding Journal**, v. 4, n. 2, p. 33-39, 2022.

PERRET, X.; STAEHELIN, C.; BROUGHTON, W. J. Molecular basis of symbiotic promiscuity. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, n. 1, p. 180-201, 2000.

POLANIA, J.; POSCHENRIEDER, C.; RAO, I.; BEEBE, S. Estimation of phenotypic variability in symbiotic nitrogen fixation ability of common bean under drought stress using ^{15}N natural abundance in grain. **European Journal of Agronomy**, v. 79, n. 1, p. 66-73, 2016.

PRELL, J.; POOLE, P. Metabolic changes of rhizobia in legume nodules. **Trends in Microbiology**, v. 14, n. 4, p. 161-168, 2006.

RAMAEKERS, L.; GALEANO, C. H.; GARZÓN, N.; VANDERLEYDEN, J.; BLAIR, M. W. Identifying quantitative trait loci for symbiotic nitrogen fixation capacity and related traits in common bean. **Molecular Breeding**, v. 31, n. 1, p. 163-180, 2013.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SANTOS, J. B.; NUNES, J. A. R. **Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. 1. ed. Lavras: Editora UFLA, 2012. 522 p.

RAMOS, M. L. G.; GORDON, A. J.; MINCHIN, F. R.; SPRENT, J. I.; PARSONS, R. Effect of water stress on nodule physiology and biochemistry of a drought tolerant cultivar of common bean (*Phaseolus Vulgaris* L.). **Annals of Botany**, v. 83, n. 1, p. 57-63, 1999.

REINPRECHT, Y.; SCHRAM, L.; MARSOLAIS, F.; SMITH, T. H.; HILL, B.; PAULS, K. P. Effects of nitrogen application on nitrogen fixation in common bean production. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. 1172, p. 1-19, 2020.

ROUSK, K.; DEGBOE, J.; MICHELSEN, A.; BRADLEY, R.; BELLENGER, J. P. Molybdenum and phosphorus limitation of moss-associated nitrogen fixation in boreal ecosystems. **New Phytologist**, v. 214, n. 1, p. 97-107, 2017.

SACHETTI, F. A. A.; VASCONCELOS, R. M. Conhecendo as exigências legais e técnicas aplicáveis às atividades de pesquisa e desenvolvimento de inoculantes. In: VASCONCELOS, R. M. (Ed.). **Marcos regulatórios aplicáveis às atividades de pesquisa e desenvolvimento**. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2016. v. 1, cap. 4, p. 151-168.

SALVADOR NETO, A.; COELHO, A. P.; MORELLO, O. F.; LEMOS, L. B.; MINGOTTE, F. L. C. Doses de nitrogênio em cultivares de feijão-comum em sistema de plantio direto. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 10, n. 1, p. 75-83, 2022.

SCHMUTZ, J.; MCCLEAN, P. E.; MAMIDI, S.; WU, G. A.; CANNON, S. B.; GRIMWOOD, J.; JENKINS, J.; SHU, S.; SONG, Q.; CHAVARRO, C.; TORRES-TORRES, M.; GEFFROY, V.; MOGHADDAM, S. M.; GAO, D.; ABERNATHY, B.; BARRY, K.; BLAIR, M.; BRICK, M. A.; CHOVIATIA, M.; GEPTS, P.; GOODSTEIN, D. M.; GONZALES, M.; HELLSTEN, U.; HYTEN, D. L.; ... JACKSON, S. A. A

reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. **Nature genetics**, v. 46, n. 7, p. 707-713, 2014.

SHAHRAJABIAN, M. H.; SUN, W.; CHENG, Q. The importance of *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Bradyrhizobium*, *Herbaspirillum*, *Sinorhizobium* in sustainable agricultural production. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici**, v. 49, n. 12183, p. 1-33, 2021.

SHAMSELDIN, A.; VELÁZQUEZ, E. The promiscuity of *Phaseolus vulgaris* L. (common bean) for nodulation with rhizobia: a review. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 36, n. 63, p. 2-12, 2020.

SILVA, A.; ALMEIDA, J. A.; SCHIMITT, C.; AMARANTE, C. V. T. Fertilidade do solo e desenvolvimento de feijão comum em resposta adubação com pó de basalto. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 7, n. 4, p. 548-554, 2012.

SILVA, A.; FRANZINI, V. I.; PICOLLA, C. D.; MURAOKA, T. Molybdenum supply and biological fixation of nitrogen by two Brazilian common bean cultivars. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 21, n. 2, p. 100-105, 2017.

SILVA, O. F. **Socioeconomia**: consumo per capita de arroz (*Oryza sativa* L.) e feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) no Brasil, de 1985 a 2018. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão. 2019. Disponível em: <<https://www.cnpaf.embrapa.br/socioeconomia/docs/arroz/consumopercapitaarrozefeijao.htm>>. Acesso em: 05 nov. 2020.

SONG, Q.; JIA, G.; HYTEN, D. L.; JENKINS, J.; HWANG, E. Y.; SCHROEDER, S. G.; OSORNO, J. M.; SCHMUTZ, J.; JACKSON, S. A.; MCCLEAN, P. E.; CREGAN, P. B. SNP assay development for linkage map construction, anchoring whole-genome sequence, and other genetic and genomic applications in common bean. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, v. 5, n. 11, p. 2285-2290, 2015.

SORATTO, R. P.; FERNANDES, A. M.; SANTOS, L. A.; JOB, A. L. G. Nutrient extraction and exportation by common bean cultivars under different fertilization levels: I – Macronutrients. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, n. 4, p. 1027-1042, 2013.

SORATTO, R. P.; PEREZ, A. G.; FERNANDES, A. M. Age no-till system and nitrogen management on common bean nutrition and yield. **Agronomy Journal**, v. 106, n. 3, p. 809-820, 2014.

SOUMARE, A.; DIEDHIOU, A. G.; THUITA, M.; HAFIDI, M.; OUHDOUCH, Y.; GOPALAKRISHNAN, S.; KOUISNI, L. Exploiting biological nitrogen fixation: A route towards a sustainable agriculture. **Plants**, v. 9, n. 1011, p. 1-22, 2020.

SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E. **Cerrado: correção do solo e adubação**. 2. ed. Brasília: Embrapa Cerrados, 2004. 416 p.

SOUZA, R. S.; WANDER, A. E. Aspectos econômicos da produção de feijão no Brasil. **Revista de Política Agrícola**, v. 23, n. 3, p. 43-54, 2014.

SOUZA, T. L. P. O.; PEREIRA, H. S.; PELOSO, M. J. D.; FARIA, L. C.; COSTA, J. G. C.; WENDLAND, A., DÍAZ, J. L. C.; MAGALDI, M. C. S.; AGUIAR, M. S.; CARVALHO, H. W. L.; SOUZA FILHO, B. F.; MELO, C. L. P.; COSTA, A. F.; ALMEIDA, V. M.; POSSE, S. C. P.; MELO, L. C. BRS FP403: high-yielding black-seeded common bean cultivar with superior grain quality and moderate resistance to fusarium wilt. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 19, n. 1, p. 240-244, 2019.

SOUZA, W. S.; SORATTO, R. P.; PEIXOTO, D. S.; CAMPOS, T. S.; SILVA, M. B.; SOUZA, A. G. V.; TEIXEIRA, I. R.; GITARI, H. I. Effects of Rhizobium inoculum compared with mineral nitrogen fertilizer on nodulation and seed yield of common bean. A meta-analysis. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 42, n. 52, p. 1-19, 2022.

SCHRÖDER, S.; MAMIDI, S.; LEE, R.; MACKAIN, M. R.; MCCLEAN, P. E.; OSORNO, J. M. Optimization of genotyping by sequencing (GBS) data in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Molecular Breeding**, v. 36, n. 6, p. 1-9, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. Assimilação de nutrientes inorgânicos. In: _____. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. São Paulo: Artmed Editora, 2017. v. 1, cap. 13, p. 353-372.

TAJINI, F.; TRABELSI, M.; DREVON, J. Comparison between the reference *Rhizobium tropici* CIAT899 and the native *Rhizobium etli* 12a3 for some nitrogen fixation parameters in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under water stress. **African Journal of Microbiology Research**, v. 6, n. 8, p. 4058-4067, 2012.

TORRES, A. R.; CURSINO, L.; MURO-ABAD, J. I.; GOMES, E. A.; ARAÚJO, E. F.; HUNGRIA, M.; CASSINI, S. T. A. Genetic diversity of indigenous common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from the state of Minas Gerais, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, n. 4, p. 852-856, 2009.

TORRES, M. H. R. M.; SOUZA, T. L. P. O.; MELO, L. C.; PEREIRA, H. S. Combining ability for resistance to Fusarium wilt and yield in black bean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 56, n. 1, e02591, 2021.

TSUTSUMI, C. Y.; BULEGON, L. G.; PIANO, J. T. Melhoramento genético do feijoeiro, avanços, perspectivas e novos estudos. **Nativa**, v. 3, n. 3, p. 217-223, 2015.

VARGAS, M. A. T.; MENDES, I. C.; HUNGRIA, M. Response of field-grown bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to *Rhizobium* inoculation and nitrogen fertilization in two Cerrados soils. **Biology and Fertility of Soils**, v. 32, n. 3, p. 228-233, 2000.

VARGAS, M. A. T.; MENDES, I. C.; CARVALHO, A. M.; LOBO-BURLE, M.; HUNGRIA, M. Inoculação de leguminosas e manejo de adubos verdes. In: SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E. **Cerrado: correção do solo e adubação**. 2. ed. Brasília: Embrapa Cerrados, 2004. v. 1, cap. 4, p. 97-127.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Revista Brasileira de Genética, 1992. 496 p.

VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. **Feijão**, 2. ed. Viçosa: UFV, 2006. 600 p.

VIEIRA, R. F. **Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas**. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2017. 163 p.

WILKER, J.; NAVABI, A.; RAJCAN, I.; MARSOLAIS, F.; HILL, B.; TORKAMANEH, D.; PAULS, P. Agronomic performance and nitrogen fixation of heirloom and conventional dry bean varieties under low-nitrogen field conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. 952, p. 1-21, 2019.

WILKER, J.; HUMPHRIES, S.; ROSAS-SOTOMAYOR, J.; CERNA, M. G.; TORKAMANEH, D.; EDWARDS, M.; NAVABI, A.; PAULS, K. P. Genetic diversity, nitrogen fixation, and water use efficiency in a panel of Honduran common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces and modern genotypes. **Plants**, v. 9, n. 1238, p. 1-42, 2020.

3. SELEÇÃO DE GENITORES E POPULAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJÃO-COMUM PRETO DESENVOLVIDOS EM SISTEMA EXCLUSIVO DE FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

RESUMO

A capacidade de fixação biológica de nitrogênio (FBN) do feijão-comum é caracterizada como baixa em comparação com outras leguminosas. A inoculação com rizóbios nas fases iniciais dos programas de melhoramento pode ser uma estratégia eficaz para o aumento da capacidade simbiótica da cultura. O objetivo foi selecionar genitores e populações segregantes de feijão-comum de grãos pretos, desenvolvidos exclusivamente sob FBN, promissores para produtividade de grãos e massa de 100 grãos. Foram obtidas 28 populações segregantes a partir de cruzamentos em esquema dialélico completo entre oito genitores. Os genitores selecionados apresentavam grãos do tipo preto, alta produtividade e potencial para FBN. As populações segregantes foram avaliadas em solos cuja principal fonte de nitrogênio foi a FBN, nas seguintes gerações/ambientes: geração F₂, na safra de inverno de 2015; geração F₃, na safra de inverno de 2016; geração F₄, na safra de inverno de 2017, em Santo Antônio de Goiás – GO; e geração F₄, na safra das águas de 2017, em Brasília-DF. Foram avaliados os caracteres massa de 100 grãos e produtividade de grãos. A análise dialélica mostrou a existência de efeitos aditivos e não-aditivos no controle genético dos caracteres, com predominância de efeitos aditivos para a massa de 100 grãos e de efeitos não-aditivos para a produtividade de grãos. As maiores estimativas de capacidade geral de combinação (g_i), na análise conjunta, para o caráter massa de 100 grãos, foram observadas para os genitores BRS FP403, CNFP 15188 e BRS Esteio, enquanto que os genitores BRS Esplendor e CNFP 15310 foram os mais indicados para formar populações com maior produtividade de grãos, em sistemas de FBN. As populações BRS FP403 / BRS Esplendor e BRS FP403 / CNFP 15310, aliaram boas estimativas de médias e capacidade específica de combinação (s_{ij}) para os dois caracteres, sendo promissoras para extração de linhagens superiores em condições de inoculação.

Palavras-chaves: *Phaseolus vulgaris* L., *Rhizobium*, fixação simbiótica de nitrogênio, rizóbios, capacidade combinatória.

ABSTRACT

SELECTION OF PARENTS AND SEGREGATING POPULATIONS OF BLACK COMMON BEAN DEVELOPED IN AN EXCLUSIVE BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION SYSTEM

The nitrogen fixation capacity of common bean is characterized as low compared to other legumes. Inoculation with rhizobia in the early stages of breeding programs can be an effective strategy to increase the symbiotic capacity of the crop. The objective was to select parents and segregating populations of black-seeded common bean, developed exclusively under nitrogen fixation, promising for grain yield and 100-grain weight. Twenty-eight segregating populations were obtained from crosses in a complete diallel scheme among eight parents. The selected parents had black-seeded type, high productivity, and potential for nitrogen fixation. The segregating populations were evaluated in soils where the main source of nitrogen was nitrogen fixation, in the following generations/environments: F₂ generation, in the winter crop of 2015; F₃ generation, in the winter crop of 2016; F₄ generation, in the winter crop of 2017, in Santo Antônio de Goiás – GO; and F₄ generation, in the rainy season crop of 2017, in Brasília-DF. One hundred-grain weight and grain yield were evaluated. Diallel analysis showed the existence of additive and non-additive effects in the genetic control of traits, with predominance of additive effects for grain weight and non-additive effects for grain yield. The highest estimates of general combining ability (g_i), in the joint analysis, for the 100-grain weight, were observed for the parents BRS FP403, CNFP 15188, and BRS Esteio, while the parents BRS Esplendor and CNFP 15310 were the most suitable for forming populations with higher grain yield, in nitrogen fixation systems. The populations BRS FP403 / BRS Esplendor and BRS FP403 / CNFP 15310 combined good estimates of means and specific combining ability (s_{ij}) for both traits, being promising for the extraction of superior lines under inoculation conditions.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L., *Rhizobium*, symbiotic nitrogen fixation, rhizobia, combinatorial capacity.

3.1 INTRODUÇÃO

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das leguminosas mais importantes para a alimentação humana, com cultivo mais expressivo nos trópicos da América Latina e nas regiões leste e sul da África (Barbosa et al., 2018). É nutricionalmente rico em ferro, proteínas, fibras e carboidratos essenciais na nutrição da população, especialmente em países em desenvolvimento (Polania et al., 2016; Wilker et al., 2019). No Brasil, a cultura é produzida principalmente por pequenos agricultores, através da prática da agricultura familiar, com cultivos em condições desfavoráveis e uso mínimo de insumos. Isso faz com que a média nacional de produtividade para o feijão-comum do tipo preto seja de 1.617 kg.ha⁻¹ (CONAB, 2024), em contraste com o potencial produtivo de mais de 4.000 kg.ha⁻¹ das cultivares melhoradas (Costa et al., 2011; Pereira et al., 2013; Souza et al., 2019).

A deficiência de nitrogênio (N) é um dos principais fatores limitantes da produtividade de grãos do feijão-comum (Maia et al., 2017). Por isso, o uso de altas doses

de fertilizantes nitrogenados (até 180 kg ha⁻¹ de N) é comum entre os produtores mais tecnificados, para aumento da biomassa vegetal e do rendimento de grãos (Soratto et al., 2017). No entanto, menos de 50% do N aplicado sob a forma de fertilizantes é efetivamente aproveitado pelas plantas. A maior parte do nutriente aplicado é facilmente perdida pelos processos de lixiviação, volatilização e desnitrificação, o que além de representar altos custos econômicos para os produtores, também traz altos custos ambientais (Figueiredo et al., 2016; Farid et al., 2017).

Uma estratégia atrativa do ponto de vista ambiental e econômico para substituição, parcial ou total dos fertilizantes minerais nitrogenados é a exploração da fixação biológica de nitrogênio (FBN). Nesse processo, leguminosas como o feijão-comum, associam-se simbioticamente com bactérias de solo do gênero *Rhizobium*, popularmente conhecidas como rizóbios, que convertem o nitrogênio atmosférico (N₂) em amônia (NH₃), forma assimilável pelas plantas (Kamfwa et al., 2019). Além de ser uma alternativa sustentável e promissora para cultivos orgânicos, estudos têm demonstrado a superioridade econômica da FBN em relação à adubação com nitrogênio mineral para o feijão-comum (Soares et al., 2015; Mercante et al., 2017). Isso ocorre devido à ampla variação nos preços dos fertilizantes nitrogenados, que pode impactar significativamente os custos de produção (Soares et al., 2015).

No entanto, a eficiência da simbiose entre bactérias e plantas varia entre as leguminosas e o feijão-comum é frequentemente caracterizado como pobre fixador de nitrogênio (Franco et al., 2001; Martínez-Romero, 2003; Kamfwa et al., 2019; Reinprecht et al., 2020). Parte desses resultados pode ser atribuída aos baixos esforços de alguns programas de melhoramento para incremento da FBN na cultura (Kamfwa et al., 2019), o que pode ter levado à perda de fenótipos eficientes no decorrer do tempo (Wilker et al., 2019). Ao longo dos programas de melhoramento, a seleção das linhagens ocorreu em solos com elevadas doses de nitrogênio mineral, o que comprovadamente reduz a capacidade de fixação simbiótica em leguminosas (Schipanski et al., 2010; Reinprecht et al., 2020; Sousa et al., 2022). Isso ocorre, pois a FBN é um processo que demanda energia das plantas e menor gasto energético é necessário para absorver o nitrogênio mineral (McKenzie et al., 2001).

Porém, apesar das constatações mencionadas, significativa variabilidade já foi identificada entre genótipos de feijão-comum para incremento da FBN (Farid e Navabi, 2015; Pereira et al., 2015; Andraus et al., 2016; Dias et al., 2020). Barbosa et al. (2018), testaram 98 genótipos de feijão-comum e encontraram capacidade de fixação de

nitrogênio variando de 0,6 a 82,6 kg ha⁻¹ de N₂ fixado, o que representa uma faixa de zero a 47,17% de nitrogênio derivado da atmosfera. Alguns trabalhos também relataram superioridade dos genótipos mesoamericanos em relação aos andinos para a capacidade fixadora de nitrogênio (Knupp et al., 2017; Wilker et al., 2019).

Os fatores expostos ressaltam a importância de programas de melhoramento específicos para o desenvolvimento de linhagens de maior capacidade simbiótica, que se iniciam com a seleção eficiente de genitores e populações segregantes. Para auxiliar nessa seleção, os cruzamentos dialélicos são particularmente úteis, uma vez que permitem que alelos favoráveis de diferentes genitores se recombinem, aumentando a probabilidade de ocorrência de genótipos superiores (Ferreira et al., 2018). No entanto, não foram encontrados estudos recentes voltados para a seleção de genitores e populações segregantes em sistemas dependentes de FBN (Pereira et al., 1993; Franco et al., 2001), principalmente em condições de campo, considerando os efeitos ambientais.

Assim, a seleção de genitores e populações segregantes de feijão-comum, em ambientes cuja principal fonte de nitrogênio é a FBN, desde as fases iniciais do programa de melhoramento, pode ser uma estratégia adequada para melhorar a capacidade simbiótica da cultura. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi selecionar genitores e populações segregantes de feijão-comum de grãos pretos, desenvolvidos exclusivamente sob FBN, promissores para produtividade de grãos e massa de 100 grãos.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O programa de melhoramento do feijão-comum da Embrapa Arroz e Feijão, desde 2007, tem conduzido um subprograma específico para FBN na cultura, com foco nos grupos comerciais carioca e preto. Desde então, centenas de cultivares e linhagens elite foram fenotipadas em ambientes cuja principal fonte de nitrogênio foi a FBN. No entanto, as médias de produtividade em sistemas com FBN foram, na maioria das situações, inferiores às obtidas com nitrogênio mineral (Pereira et al., 2015; Dias et al., 2020). Com o objetivo de favorecer a expressão da FBN, a partir de 2014, foram realizados cruzamentos entre os genótipos promissores identificados nas avaliações iniciais, para desenvolver populações a serem conduzidas, desde as primeiras gerações segregantes, em condições de inoculação com rizóbio.

Os cruzamentos entre os genótipos elite para obtenção das populações segregantes para o grupo comercial preto, foram realizados em esquema dialélico

completo entre oito genitores: as linhagens elite CNFP 10807, CNFP 15171, CNFP 15188, CNFP 15295 e CNFP 15310 e as cultivares comerciais BRS Esteio, BRS Esplendor e BRS FP403. A maioria dos genitores selecionados foi avaliada por Dias et al. (2020) em onze ambientes, nos estados do Paraná, Goiás e Distrito Federal. Nesses ensaios, foram realizados dois experimentos lado a lado: um com adubação nitrogenada (100 kg ha^{-1} de N) e outro com inoculação com rizóbio. No estudo, as cultivares BRS FP403 e BRS Esteio apresentaram ampla adaptabilidade e estabilidade produtiva em ambos os sistemas de cultivo, além disso, a cultivar BRS FP403 mostrou número e massa seca de nódulos satisfatórios e alta massa de grãos no sistema de FBN; a linhagem elite CNFP 15188 apresentou resistência a antracnose em ambas as fontes de nitrogênio; e a linhagem CNFP 15171 e a cultivar BRS Esplendor apresentaram resistência moderada a mancha angular, além de produtividade de grãos semelhante nos dois sistemas de cultivo. Já as linhagens elite CNFP 10807, CNFP 15310 e CNFP 15295 foram selecionadas a partir de ensaios preliminares avançados e VCUs (Valor de Cultivo e Uso) da Embrapa Arroz e Feijão e mostraram alta produtividade de grãos em solos cuja principal fonte de N foi a FBN.

Os cruzamentos controlados entre os oito genitores foram realizados em Santo Antônio de Goiás-GO, para obtenção de 28 populações que foram avançadas até a geração F_2 em casa de vegetação. As populações foram avaliadas em quatro experimentos. O experimento I foi composto pela geração F_2 , semeada na safra de inverno de 2015 em Santo Antônio de Goiás – GO; o experimento II foi conduzido com a geração F_3 , na safra de inverno de 2016 em Santo Antônio de Goiás – GO; o experimento III foi composto pela geração F_4 , semeada na safra de inverno de 2017 em Santo Antônio de Goiás – GO; e o experimento IV foi conduzido com a geração F_4 , na safra das águas de 2017 em Brasília – DF. As sementes das gerações F_3 e F_4 foram obtidas por amostragem das gerações F_2 e F_3 , respectivamente, colhidas em bulk dos experimentos I e II. Em todos os quatro experimentos foram incluídas quatro testemunhas: as cultivares/genitores BRS Esplendor, BRS Esteio e BRS FP403 e IPR Uirapuru. Os 32 tratamentos, em todos os experimentos, foram avaliados em delineamento de blocos completos casualizados com quatro repetições e parcelas de duas linhas de quatro metros, com espaçamento de 0,5 m entre linhas.

O clima das regiões em que os experimentos foram conduzidos é Aw, tropical de savana, conforme a classificação de Köppen e o solo predominante é o Latossolo Vermelho-Escuro, de textura argilosa e relevo plano (Embrapa, 2018). A análise de solo

para cada local, indicou baixos teores de matéria orgânica, o que é característico das áreas de pesquisa, devido ao uso intensivo do solo. As áreas experimentais receberam adubação com P_2O_5 e K_2O no plantio, de acordo com as análises de solo, não sendo realizada adubação com nitrogênio mineral.

As sementes foram inoculadas com rizóbio para que a fonte principal de nitrogênio necessária para o desenvolvimento das plantas fosse proveniente do processo de FBN. A inoculação das sementes foi realizada com inoculante turfoso preparado no Laboratório de Biologia do Solo da Embrapa Arroz e Feijão, composto pela mistura 1:1:1 das estirpes de *Rhizobium tropici* (SEMIA 4077 e 4088) e de *R. freirei* (SEMIA 4080), registradas junto ao MAPA para o feijão-comum. O inoculante possui uma densidade de 10^9 células g^{-1} de turfa, e foi aplicado na proporção de 500 g do produto para 50 kg de sementes. Uma solução de sacarose, na concentração 10%, foi utilizada para melhorar a adesão do inoculante turfoso às sementes. A solução foi despejada sobre as sementes, que foram agitadas para devida homogeneização. Em seguida, o inoculante turfoso foi aplicado e, novamente, as sementes foram agitadas para o espalhamento uniforme do produto em sua superfície. As sementes foram secas à sombra e a semeadura realizada em até 24 horas para que as bactérias não perdessem sua viabilidade.

Os caracteres avaliados foram a produtividade e a massa de 100 grãos. A produtividade de grãos, ajustada para 13% de umidade, foi obtida em $g\text{ parcela}^{-1}$, ao realizar a pesagem dos grãos colhidos de todas as plantas das duas linhas, com posterior conversão para $kg\text{ ha}^{-1}$. Já a massa de 100 grãos foi obtida coletando-se 100 grãos, aleatoriamente, de cada parcela, para posterior pesagem e determinação da massa em gramas (g).

Os dados foram submetidos a análises de variância individuais para cada caráter avaliado em cada ambiente. As análises conjuntas envolvendo os quatro ambientes foram realizadas após verificada a homogeneidade das variâncias residuais pelo teste de Hartley (Ramalho et al., 2005). Foram estimados o coeficiente de variação experimental (CV) e a acurácia seletiva (AS), para verificação da precisão experimental e as médias foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott (1974), a 5% de probabilidade. Para determinar se houve predominância de interações simples ou complexas entre os ambientes, as correlações de Spearman foram estimadas para os caracteres avaliados, considerando as médias dos genótipos em cada experimento.

Os dados de massa de 100 grãos e produtividade de grãos foram submetidos às análises dialélicas individuais e conjuntas, conforme o método IV de Griffing (1956).

A estimação da capacidade geral (CGC) e específica (CEC) de combinação e a obtenção das somas de quadrados para a análise de variância foram realizadas a partir do método dos quadrados mínimos. A análise de variância conjunta foi realizada considerando os genótipos e ambientes como efeitos fixos, conforme o modelo a seguir:

$$Y_{ijl} = \mu + a_l + g_i + g_{i'} + s_{ii'} + (ga)_{il} + (ga)_{i'l} + (sa)_{ii'l} + \bar{\epsilon}_{ii'l}$$

Em que:

$Y_{ii'l}$ = valor médio do híbrido envolvendo os genitores i e i' no ambiente l;

μ = média geral;

a_l = efeito fixo do ambiente l;

$g_i, g_{i'}$: efeitos fixos de capacidade geral de combinação do i-ésimo e i'-ésimo genitor, respectivamente;

$s_{ii'}$ = efeito fixo da capacidade específica de combinação para os cruzamentos entre os genitores i e i';

$(ag)_{il}, (ag)_{i'l}, (as)_{ii'l}$ = efeitos fixos das interações de ambientes com os efeitos descritos acima;

$e_{ii'l}$ = erro experimental médio associado ao cruzamento envolvendo os genitores i e i' no ambiente l.

Os componentes quadráticos associados a capacidade geral de combinação ($\hat{\phi}_{CGC}$) e a capacidade específica de combinação ($\hat{\phi}_{CEC}$) foram estimados pelo método dos momentos com base nas esperanças dos quadrados médios. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa computacional GENES (Cruz, 2013).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As estimativas do coeficiente de variação (CV) variaram de 3,6% a 8,4% para massa de 100 grãos e de 15,7% a 24,9% para produtividade de grãos (Tabela 3.1), o que aponta adequada precisão experimental para os caracteres avaliados. Para produtividade de grãos, estimativas de CV pouco acima de 20% são esperadas, principalmente devido a ampla variação e alta influência ambiental que o caráter apresenta, além do fato de as populações estarem segregando. A precisão experimental satisfatória foi comprovada pelas estimativas de acurácia seletiva, que foram altas ($0,70 < AS < 0,90$) ou muito altas

($AS \geq 0,90$), o que indicou boa capacidade de discernir os genótipos superiores (Resende & Duarte, 2007).

Foram detectadas diferenças significativas entre as populações para os caracteres massa de 100 grãos e produtividade de grãos em todos os experimentos (Tabela 3.1). Isso indica que os cruzamentos entre genitores com alelos favoráveis para caracteres agrônomicos e de FBN foram eficientes para gerar variabilidade genética entre as populações, em ambientes cuja principal fonte de nitrogênio foi a fixação biológica. As testemunhas diferenciaram-se apenas para massa de 100 grãos. O contraste das testemunhas versus populações (T vs P) não foi significativo para ambos os caracteres em todos os experimentos. Isso indica que as populações experimentais atingem os padrões agrônomicos exigidos para exploração comercial, ressaltando o bom desempenho desses genótipos, desenvolvidos para sistemas de FBN.

O efeito da capacidade geral de combinação (CGC) foi significativo para a massa de 100 grãos nos quatro experimentos (Tabela 3.1). Para a produtividade de grãos, não foram observadas diferenças estatísticas para CGC apenas no experimento III. Quanto à capacidade específica de combinação (CEC), não houve significância apenas no experimento II para massa de 100 grãos e nos experimentos II e IV para produtividade de grãos. Estes resultados apontam que há diferenças na concentração de alelos favoráveis entre os genitores e híbridos e que efeitos genéticos aditivos e não-aditivos podem ter afetado a expressão dos caracteres nos genótipos avaliados em sistema de FBN.

As estimativas dos componentes quadráticos associados aos efeitos da CGC ($\hat{\varphi}_{CGC}$) foram superiores aos componentes quadráticos associados aos efeitos da CEC ($\hat{\varphi}_{CEC}$) para a massa de 100 grãos (Tabela 3.1). Isso indica que, embora haja efeitos genéticos não-aditivos atuando na expressão do caráter, houve predomínio dos efeitos genéticos aditivos nos quatro experimentos realizados. Resultados semelhantes foram relatados para a massa de grãos em feijão-comum (Atnaf et al., 2013; Gonçalves et al., 2015; Torres et al., 2021). A predominância de efeitos aditivos para o caráter aponta para a possibilidade de selecionar progênes promissoras, ou seja, com maior tamanho de grãos, logo nas primeiras gerações segregantes (F_2 , F_3 e F_4) (Cruz et al., 2012).

Tabela 3.1. Quadrados Médios (QM) das análises dialélicas individuais de 28 populações e quatro testemunhas de feijão-comum preto avaliadas em ambientes cuja principal fonte de nitrogênio foi a fixação biológica, para massa de 100 grãos (M100 - g) e produtividade de grãos (Prod - kg.ha⁻¹).

Fonte de variação	GL	QM							
		Experimento I ^a		Experimento II ^b		Experimento III ^c		Experimento IV ^d	
		M100	Prod	M100	Prod	M100	Prod	M100	Prod
Genótipos	31	8,3**	267271**	7,2**	178679**	11,1**	336303**	6,5**	508181**
Testemunhas (T)	3	26,7**	231926	8,6*	161220	44,7**	245732	19,9**	369403
Populações (P)	27	6,6**	280618**	7,2**	179550**	7,8**	356347**	5,3**	534973**
CGC	7	17,8**	420965**	21,1**	287240**	22,3**	330027	14,1**	1055680**
CEC	20	2,6*	231497**	2,4	141858	2,7**	365559**	2,2**	352726
T vs P	1	0,6	12947	1,5	207523	0,5	66844	0,3	201120
Resíduo	93	1,3	101500	2,8	86623	0,7	172266	0,8	243966
$\hat{\varphi}_{CGC}^1$	-	0,7	13311	0,8	8359	0,9	6573	0,5	33821
$\hat{\varphi}_{CEC}^2$	-	0,3	32499	0,1	13809	0,5	48323	0,3	27190
Média das Populações	-	23,3	2009	20,1	1164	24,0	2504	23,4	3136
Média das Testemunhas	-	23,1	1978	19,8	1286	24,1	2435	23,5	3256
Coefficiente de Variação (%)	-	4,9	15,9	8,4	24,9	3,6	16,6	3,9	15,7
Acurácia Seletiva	-	0,92	0,79	0,78	0,72	0,97	0,70	0,93	0,72

^aF₂ em Santo Antônio de Goiás no inverno de 2015; ^bF₃ em Santo Antônio de Goiás no inverno de 2016; ^cF₄ em Santo Antônio de Goiás no inverno de 2017; ^dF₄ em Brasília nas águas de 2017;

¹Componente quadrático associado a capacidade geral de combinação (CGC); ²Componente quadrático associado a capacidade específica de combinação (CEC)

**, *: significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste F.

Para a produtividade de grãos, os componentes quadráticos associados a CEC foram superiores em todos os experimentos, com exceção do experimento IV, que apresentou estimativas semelhantes para os componentes da CGC e CEC (Tabela 3.1). O predomínio de efeitos não-aditivos no controle genético da produtividade de grãos pode resultar em híbridos com rendimentos superiores ao do melhor genitor e é um indicativo de que a seleção de linhagens deve começar em gerações mais avançadas de endogamia (Silva et al., 2013). No entanto, a menor proporção de efeitos aditivos para produtividade de grãos não é comum para o feijão-comum, principalmente em gerações avançadas e pode ser explicada pelo fato de os genitores serem cultivares ou linhagens previamente selecionadas para produtividade e apresentarem menor variabilidade de alelos entre os genitores, ou seja, situação muito específica desta população (Cruz et al., 2012).

A análise dialélica conjunta mostrou diferenças estatísticas entre as populações para as capacidades geral (CGC) e específica (CEC) de combinação de ambos os caracteres (Tabela 3.2). Assim como observado nas análises individuais, as estimativas dos componentes quadráticos ($\hat{\phi}_{CGC}$ e $\hat{\phi}_{CEC}$) mostraram predominância de efeitos aditivos para a massa de 100 grãos e de efeitos não-aditivos para a produtividade de grãos. O efeito de ambientes foi altamente significativo para os dois caracteres, com porcentagem de contribuição para a variação total de 30,2% para a massa de 100 grãos e de 69,5% para a produtividade de grãos. Estes resultados apontam que os fatores relacionados às gerações, anos, safras e locais afetaram a expressão dos caracteres nos genótipos avaliados em sistema de FBN.

Os efeitos de gerações, anos, safras e locais ficaram confundidos na fonte de variação ambientes da análise conjunta. Para o feijão-comum, é comum que haja confundimento de efeitos em análises dialélicas conjuntas, principalmente devido os experimentos serem realizados ao longo de gerações segregantes diferentes em até três safras por ano (Ferreira et al., 2018; Di Prado et al., 2019; Pereira et al., 2019; Torres et al., 2021). Moura et al. (2018) realizaram um estudo com o intuito de identificar quais efeitos mais influenciaram as estimativas dos parâmetros genéticos do dialelo. Nas condições do estudo, foi identificada maior influência dos efeitos de safras e locais em relação ao efeito de gerações para produtividade de grãos. Conforme os autores, o efeito de gerações não foi importante, ou seja, as estimativas foram consistentes nas gerações F₁ e F₂, o que é vantajoso, pois permite avaliações utilizando a geração F₂, que apresenta maior quantidade de sementes disponíveis para experimentação em vários ambientes, além de indicar que há repetibilidade de informações entre as gerações.

Tabela 3.2. Quadrados médios (QM) das análises dialélicas conjuntas de 28 populações e quatro testemunhas de feijão-comum preto avaliadas em ambientes cuja principal fonte de nitrogênio foi a fixação biológica, para os caracteres massa de 100 grãos (M100 - g) e produtividade de grãos (Prod – kg ha⁻¹).

Fonte de Variação	GL	M100		PROD	
		QM	R ² (%)	QM	R ² (%)
Genótipos	31	26,8**	20,8	446362**	3,6
Testemunhas (T)	3	89,8**	6,8	137520	0,1
Populações (P)	27	20,7**	14,0	494592**	3,5
CGC	7	65,9**	11,6	770748**	1,4
CEC	20	4,9**	2,5	397937**	2,1
T vs P	1	0,1	0,0	70672	0,0
Ambientes (A)	3	401,1**	30,2	88314943**	69,5
Genótipos x A	93	2,1**	4,9	281358**	6,9
Testemunhas x A	9	3,4*	0,8	290254*	0,7
Populações x A	81	2,0*	4,1	285632**	6,1
CGC x A	21	3,1**	1,6	441054**	2,4
CEC x A	60	1,7	2,5	231234*	3,6
(T vs P) x A	3	0,9	0,1	139254	0,1
Resíduo Médio	372	1,4	-	151089	-
$\hat{\varphi}_{CGC}^1$	-	0,6	-	1733	-
$\hat{\varphi}_{CEC}^2$	-	0,1	-	12901	-
Média das Populações	-	22,7	-	2203	-
Média das Testemunhas	-	22,6	-	2239	-
Coeficiente de Variação (%)		5,3	-	17,6	-
Acurácia Seletiva		0,97	-	0,81	-

¹Componente quadrático associado a capacidade geral de combinação (CGC); ²Componente quadrático associado a capacidade específica de combinação (CEC)

**, *: significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste F.

Os valores médios da massa de 100 grãos e da produtividade de grãos apresentaram grande variação entre os ambientes para as populações (Tabela 3.1), o que confirma a influência ambiental sobre estes caracteres. Para massa de 100 grãos, as médias variaram de 20,1 g no experimento II a 24,0 g no experimento III. A produtividade de grãos apresentou menor média no experimento II (1164 kg.ha⁻¹), que esteve bem abaixo dos valores dos demais experimentos. Um dos prováveis motivos pode ser o efeito residual de um herbicida aplicado anteriormente na área experimental, para controle de plantas invasoras em arroz. As maiores médias foram observadas para os experimentos I, III e IV, que apresentaram produtividades de 2009 kg.ha⁻¹, 2504 kg.ha⁻¹ e 3136 kg.ha⁻¹, respectivamente.

Os locais e safras de avaliação também podem ser prováveis razões para as oscilações encontradas entre os ambientes para as médias de produtividade de grãos. Ao contrário do observado neste estudo, a safra de inverno costuma apresentar melhores médias, uma vez que é conduzida sob irrigação, enquanto a safra das águas é caracterizada pelo excesso e distribuição irregular das chuvas, o que predispõe o surgimento de doenças. Porém, os cultivos realizados em Brasília e entorno, regiões de altitude mais elevada, também apresentam melhor desempenho (Pereira et al., 2011; Torga et al., 2013).

Outro provável fator para as variações nas médias pode estar relacionado a FBN, uma vez que plantas noduladas são mais sensíveis a estresses abióticos. Em regiões tropicais, que apresentam grande variação nas condições climáticas conforme a época do ano, altas temperaturas, baixa umidade e a acidez do solo são as principais causas de falhas na nodulação, afetando a relação simbiótica, o desenvolvimento das plantas e a sobrevivência dos rizóbios no solo (Hungria e Vargas, 2000). Além disso, apesar de a espécie *Rhizobium tropici*, muito utilizada em inoculantes comerciais para aplicação em feijão-comum, apresentar resistência intrínseca a condições abióticas diversas (Ormeño-Orrillo et al., 2012), ainda são necessários estudos acerca da eficiência desses rizóbios nodulares em solos submetidos a diferentes tipos de estresses (Shamseldin e Velázquez, 2020).

As interações populações x ambientes e testemunhas x ambientes foram significativas para os dois caracteres (Tabela 3.2), o que aponta um comportamento diferencial dos genótipos entre os ambientes. As estimativas de correlação de Spearman altas e significativas entre as médias dos quatro experimentos, apontam interação G x A predominantemente simples para a massa de 100 grãos (Figura 3.1A). Para produtividade de grãos, a maioria das estimativas foram baixas e não significativas (Figura 3.1B), o que é um indicativo de que a interação G x A foi predominantemente complexa, ou seja, houve alterações no ranqueamento das populações entre os ambientes. Exceção ocorreu para a associação entre as médias dos experimentos II e IV, que apesar de ter sido significativa, apresentou valor entre 0,41 e 0,60, indicando que as interações do tipo simples e complexa não foram diferentes (Dias et al., 2020).

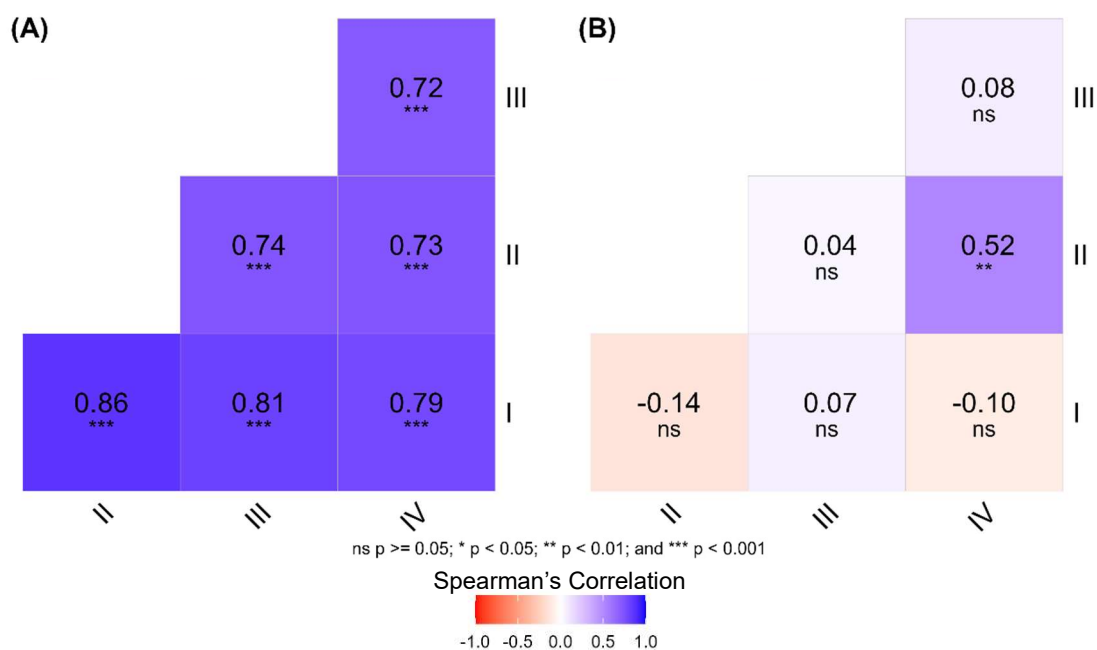


Figura 3.1. Correlações de Spearman entre as médias dos quatro experimentos (I: F₂ em Santo Antônio de Goiás no inverno de 2015; II: F₃ em Santo Antônio de Goiás no inverno de 2016; III: F₄ em Santo Antônio de Goiás no inverno de 2017; e IV: F₄ em Brasília nas águas de 2017) para os caracteres massa de 100 grãos (A) e produtividade de grãos (B), avaliados em 28 populações e quatro testemunhas de feijão-comum preto em ambientes cuja principal fonte de nitrogênio foi a fixação biológica.

Para a massa de 100 grãos, houve diferença estatística apenas para a interação CGC x ambientes (Tabela 3.2). A ausência de interação para as estimativas de CEC com ambientes, sugere que os efeitos não-aditivos foram mais estáveis que os efeitos aditivos nos ambientes avaliados (Moura et al., 2018). Já para a produtividade de grãos, as interações CGC x ambiente e CEC x ambiente foram significativas, o que indica que os genitores e combinações híbridas apresentaram um comportamento diferencial frente às variações ambientais.

Em relação às estimativas de CGC (\hat{g}_i) para massa de 100 grãos, os genitores BRS FP403, CNFP 15188 e BRS Esteio obtiveram as maiores estimativas positivas nos quatro ambientes e na análise conjunta (Tabela 3.3), ou seja, estes genitores são superiores aos demais, com relação ao comportamento médio dos cruzamentos. Para produtividade de grãos, destacaram-se os genitores BRS Esplendor e CNFP 15310, que apresentaram estimativas de \hat{g}_i significativas e positivas na maioria dos ambientes e na análise conjunta. Estes resultados apontam que estas linhagens apresentam alelos que contribuiriam para o incremento no rendimento de grãos em ambientes voltados para FBN, nos cruzamentos em que participaram.

Tabela 3.3. Estimativas dos efeitos de capacidade geral de combinação (\hat{g}_i) de oito linhagens de feijão-comum preto avaliadas em quatro ambientes (Exp. I, II, III e IV), em ambientes cuja principal fonte de nitrogênio foi a fixação biológica, para massa de 100 grãos (M100 - g) e produtividade de grãos (PROD – kg ha⁻¹).

Genitores	M100					PROD				
	Exp. I ^a	Exp. II ^b	Exp. III ^c	Exp. IV ^d	Conj.	Exp. I	Exp. II	Exp. III	Exp. IV	Conj.
CNFP 10807	0,15	-0,31	0,08	0,17	0,02	163,89*	-118,04*	70,69	-103,53*	3,25
BRS Esteio	0,44*	0,15	0,96*	0,56*	0,53*	14,34	-90,79*	-127,31*	-20,66	-56,10*
BRS FP403	1,28*	1,78*	1,49*	1,05*	1,40*	-24,95	24,71	24,98	-277,66*	-63,23*
BRS Esplendor	-1,19*	-0,53*	-1,64*	-0,74*	-1,03*	58,93	194,88*	165,23*	357,05*	194,02*
CNFP 15171	-0,90*	-1,11*	-0,73*	-0,42*	-0,79*	-283,87*	116,92*	-122,19*	238,26*	-12,72
CNFP 15188	0,88*	0,93*	0,22*	0,69*	0,68*	6,59	-87,83*	-138,56*	-94,28	-78,52*
CNFP 15310	-0,56*	-0,61*	-0,14	-1,20*	-0,63*	99,18*	-40,38	113,15*	54,34	56,57*
CNFP 15295	-0,10	-0,31	-0,25*	-0,12	-0,19*	-34,12	0,54	14,02	-153,53*	-43,27*
$\sigma (g_i)^1$	0,22	0,32	0,16	0,18	0,11	60,83	56,20	79,25	94,31	37,11
$\sigma (g_i - g_j)^2$	0,33	0,49	0,25	0,26	0,17	91,97	84,96	119,81	142,59	56,08

^aAvaliação da F₂ em Santo Antônio de Goiás no inverno de 2015; ^bAvaliação da F₃ em Santo Antônio de Goiás no inverno de 2016; ^cAvaliação da F₄ em Santo Antônio de Goiás no inverno de 2017; ^dAvaliação da F₄ em Brasília nas águas de 2017; ¹Erro associado à capacidade geral de combinação; ²Erro associado à diferença de g_i do genitor i com o genitor j.

Em estudo realizado por Torres et al. (2021), embora a cultivar BRS Esplendor tenha se destacado para resistência à murcha-de-fusário, não foram encontradas estimativas de \hat{g}_i significativas para produtividade de grãos para este genótipo, enquanto as cultivares BRS Esteio e BRS FP403 foram destaque para o caráter, com estimativas de \hat{g}_i positivas e significativas. Os autores avaliaram os genótipos na mesma região, anos e gerações do presente estudo, em solos com adubação nitrogenada. Assim, a fonte de nitrogênio utilizada pode ser uma das causas dos resultados contrários encontrados, ou seja, diferentes conjuntos de genes envolvidos no controle genético da produtividade de grãos podem ter sido expressos de acordo com o sistema de fornecimento de nitrogênio utilizado, o que fez com que as cultivares genitoras respondessem diferentemente quando avaliadas com nitrogênio mineral ou em sistema de FBN.

Para massa de 100 grãos, as médias das populações e testemunhas na análise conjunta variaram de 20,06 gramas a 25,66 gramas (Tabela 3.4), valores semelhantes aos relatados por Dias et al. (2020) em experimento utilizando inoculação com rizóbio. O genitor/testemunha BRS FP403 apresentou média superior a todos os genótipos. Em relação às demais testemunhas, 35% dos genótipos apresentaram médias superiores ao genitor BRS Esteio, 68% apresentaram médias superiores a cultivar IPR Uirapuru e o genitor BRS Esplendor obteve a menor média dentre os genótipos avaliados. Devido às exigências do mercado brasileiro por grãos maiores, o incremento da massa de 100 grãos é muito importante para o aumento do valor de mercado do feijão-comum (Faria et al., 2013). Para o tipo carioca, por exemplo, são preferidos grãos mais graúdos, com massa de 100 grãos superior a 25 gramas (Pereira et al., 2012), enquanto que para o feijão-comum preto, grãos com massa superior a 22 gramas são aceitáveis.

Em relação à produtividade de grãos, com base na análise conjunta, as médias variaram de 1900 kg ha⁻¹ para a população CNFP 10807 / CNFP 15295 a 2581 kg ha⁻¹ para a população BRS Esplendor / CNFP 15188 (Tabela 3.4). Os genótipos avaliados formaram dois grandes grupos de médias. O primeiro grupo foi formado por 11 populações e as testemunhas BRS FP403, BRS Esplendor e IPR Uirapuru. Já o segundo grupo, foi constituído por 17 populações e a testemunha BRS Esteio. As médias foram semelhantes às encontradas em avaliações de feijão-comum preto com inoculação com rizóbio (Dias et al., 2020) e adubação mineral nitrogenada (Pereira et al., 2019; Torres et al., 2021; Carloni et al., 2022), o que evidencia o potencial das populações desenvolvidas exclusivamente para sistema de FBN.

Tabela 3.4. Estimativas de média e capacidade específica (\hat{s}_{ij}) de combinação de 28 populações e quatro testemunhas de feijão-comum preto avaliadas em ambientes cuja principal fonte de nitrogênio foi a fixação biológica, para massa de 100 grãos (M100 - g) e produtividade de grãos (PROD – kg ha⁻¹), com base na análise conjunta.

Genótipos	M100		PROD	
	Média	\hat{s}_{ij}	Média	\hat{s}_{ij}
BRS ESPLENDOR / CNFP 15188	22,3 d	-0,04	2581 a	261,76*
BRS FP403 / BRS ESPLENDOR	23,6 c	0,50*	2468 a	133,84*
BRS ESPLENDOR / CNFP 15295	21,5 e	0,04	2406 a	51,76
CNFP 10807 / CNFP 15310	22,1 d	0,03	2397 a	134,00*
BRS ESPLENDOR / CNFP 15171	20,8 e	-0,03	2369 a	-15,92
CNFP 15171 / CNFP 15295	21,7 d	0,01	2367 a	219,31*
BRS FP403 / CNFP 15310	24,3 b	0,83*	2366 a	169,48*
CNFP 15171 / CNFP 15310	21,4 e	0,11	2348 a	100,97*
BRS ESTEIO / BRS ESPLENDOR	21,4 e	-0,75*	2344 a	3,03
BRS FP403	25,7 a	-	2321 a	-
CNFP 10807 / CNFP15171	21,8 d	-0,10	2315 a	120,98*
BRS ESPLENDOR	20,1 f	-	2270 a	-
IPR UIRAPURU	21,7 d	-	2258 a	-
CNFP 10807 / BRS ESTEIO	22,9 c	-0,29*	2252 a	101,93*
CNFP 10807 / BRS ESPLENDOR	21,8 d	0,14	2211 b	-189,82*
BRS ESPLENDOR/CNFP 15310	21,1 e	0,13	2209 b	-244,65*
CNFP 15310 / CNFP 15295	21,7 d	-0,16	2189 b	-28,04
CNFP 10807 / BRS FP403	24,5 b	0,39*	2186 b	42,93
BRS ESTEIO / CNFP 15310	22,0 d	-0,57*	2186 b	-18,02
CNFP 10807 / CNFP 15188	23,7 c	0,30*	2181 b	53,16
BRS ESTEIO / CNFP 15188	23,9 c	-0,03	2153 b	84,45*
BRS ESTEIO / CNFP 15295	24,2 b	1,19*	2150 b	45,95
BRS FP403 / CNFP 15295	23,4 c	-0,52*	2120 b	23,45
BRS ESTEIO	23,0 c	-	2106 b	-
CNFP 15188 / CNFP 15310	22,4 d	-0,37*	2068 b	-113,73*
CNFP 15188 / CNFP 15295	23,1 c	-0,10	2032 b	-49,26
BRS ESTEIO / BRS FP403	24,9 b	0,26*	2001 b	-83,22*
BRS ESTEIO / CNFP 15171	22,6 d	0,19	2000 b	-134,11*
CNFP 15171 / CNFP 15188	23,3 c	0,76*	1992 b	-120,56*
BRS FP403 / CNFP 15171	22,3 d	-0,95*	1957 b	-170,67*
BRS FP40/ CNFP 15188	24,2 b	-0,52*	1946 b	-115,80*
CNFP 10807 / CNFP 15295	22,0 d	-0,47*	1900 b	-263,16*
$\sigma (s_{ij})^1$	-	0,25	-	81,88
$\sigma (s_{ij} - s_{ik})^2$	-	0,39	-	125,45
$\sigma (s_{ij} - s_{kl})^3$	-	0,35	-	112,21

¹Erro associado à s_{ij} ; ²Erro associado à diferença na capacidade específica de combinação para $i \neq k$ e $j \neq k$; ³Erro associado à diferença na capacidade específica de combinação para $i \neq k$, l e $j \neq k$, l .

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de médias de Scott Knott (5% de probabilidade).

Em estudos realizados para testar a performance de genótipos elite de feijão-comum sob diferentes fontes de nitrogênio, não foram identificadas linhagens que apresentassem maiores rendimentos de grãos com a fixação biológica do que com uso de adubação mineral, ou seja, as linhagens inoculadas com rizóbio apresentaram desempenho semelhante ou, na maioria das vezes, inferior às adubadas com fertilizante mineral (Farid e Navabi, 2015; Pereira et al., 2015; Dias et al., 2020; Reinprecht et al., 2020). De acordo com Pereira et al. (2015), parte desses resultados se deve ao fato de que, ao longo dos programas de melhoramento, as linhagens foram desenvolvidas e selecionadas em solos adubados com altos teores de fertilizante nitrogenado. Uma correlação negativa entre a fixação biológica e o teor de nitrogênio disponível no solo já foi consistentemente relatada na literatura (Schipanski et al., 2010; Tamagno et al., 2018; Reinprecht et al., 2020; Sousa et al., 2022).

Dessa forma, desenvolver populações base a partir de genitores com alelos favoráveis para caracteres agronômicos e relacionados a FBN e conduzi-las, desde as fases iniciais, em solos cuja principal fonte de nitrogênio é a FBN, pode ser vantajoso para o desenvolvimento de cultivares com alto desempenho produtivo sob fixação biológica. Nas fases iniciais, como o volume de genótipos para serem avaliados é alto, recomenda-se a avaliação de caracteres relacionados a produtividade, já que tem sido visto que a fixação de nitrogênio pode estar significativamente associada com o rendimento de grãos em leguminosas (Farid e Navabi, 2015; Heilig et al., 2017; Barbosa et al., 2018). Em etapas mais avançadas do programa, recomenda-se a avaliação de caracteres relacionados diretamente com a FBN, como número e atividade nodular (Dias et al., 2020), teor de nitrogênio derivado da atmosfera, massa seca da planta (Jiang et al., 2020), entre outros.

Para o melhorista, é importante aliar estimativas significativas e de alta magnitude da CEC (\hat{s}_{ij}) à médias elevadas, envolvendo pelo menos um dos genitores com estimativas de CGC favoráveis (Cruz et al., 2012). A magnitude do efeito da CEC é relevante, pois aponta a dimensão da variabilidade que pode ser explorada em cada população, havendo maior probabilidade de obter segregantes transgressivos quando o efeito da CEC é elevado (Moura et al., 2016). A população BRS Esteio/CNFP 15295 se destacou por apresentar estimativas de \hat{s}_{ij} positivas e significativas em todos os ambientes e na análise conjunta para massa de 100 grãos (Tabela 3.4; Apêndice B) Também merecem destaque as populações BRS FP403 / CNFP 15310, CNFP 15171 / CNFP 15188 e BRS FP403 / BRS Esplendor, que apresentaram estimativas positivas e significativas

em pelo menos dois ambientes e na análise conjunta. Além de estimativas favoráveis de \hat{s}_{ij} , os genótipos citados também apresentaram boas médias e pelo menos um genitor com estimativas positivas e significativas de \hat{g}_i .

Em relação a capacidade específica de combinação (\hat{s}_{ij}) para produtividade de grãos, nove populações apresentaram estimativas positivas e significativas na análise conjunta (Tabela 3.4). Porém, as populações CNFP 10807 / BRS Esteio, BRS FP403 / CNFP 15310, BRS Esplendor / CNFP 15188 e BRS FP403 / BRS Esplendor conseguiram aliar boas estimativas de \hat{s}_{ij} , médias elevadas na maioria dos ambientes e na análise conjunta (Tabela 3.4; Apêndices A e B) e pelo menos um genitor com estimativa favorável de \hat{g}_i (Tabela 3.3). Cabe ressaltar que os cruzamentos BRS FP403 / BRS Esplendor e BRS FP403 / CNFP 15310 também foram destaques para o caráter massa de 100 grãos. Assim, os genótipos oriundos desses cruzamentos são promissores para o melhoramento de linhagens superiores em termos de rendimento e massa de grãos em ambientes voltados para a FBN.

3.4 CONCLUSÃO

Nos programas de melhoramento do feijão-comum tipo preto, os genitores BRS FP403, CNFP 15188 e BRS Esteio são indicados para formação de populações com maior massa de grãos e os genitores BRS Esplendor e CNFP 15310 são indicados para formação de populações com maior produtividade de grãos para sistemas de cultivo com fixação biológica de nitrogênio.

As populações BRS FP403 / BRS Esplendor e BRS FP403 / CNFP 15310 são as mais promissoras para extração de linhagens de feijão-comum preto que combinem elevada massa e produtividade de grãos em ambientes com fixação biológica de nitrogênio.

3.5 REFERÊNCIAS

ANDRAUS, M. P.; CARDOSO, A. A.; FERREIRA, E. P. B. Differences in nodulation and grain yield on common bean cultivars with different growth cycles. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 47, n, 9, p. 1148-1161, 2016.

ATNAF, M.; MOHAMMED, H.; ZELLEKE, H. Inheritance of primary yield component traits of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.): number of seeds per pod and 1000 seed weight in an 8 x 8 diallel cross population. **International Journal of Genetics and Molecular Biology**, v. 5, n. 4, p. 42-48, 2013.

BARBOSA, N.; PORTILLA, E.; BUENDIA, H. F.; RAATZ, B.; BEEBE, S.; RAO, I. Genotypic differences in symbiotic nitrogen fixation ability and seed yield of climbing bean. **Plant and Soil**, v. 428, n. 1, p. 223-239, 2018.

CARLONI, P. R.; MELO, P. G. S.; MELO, L. C.; FARIA, L. C.; SOUZA, T. L. P. O.; ALMEIDA, V. M.; CARVALHO, H. W. L.; PEREIRA FILHO, I. A.; AGUIAR, M. S.; PEREIRA, H. S. Genotype by environmental interaction in common bean cultivars for iron and zinc concentration in grains. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 43, n. 4, p. 1797-1904, 2022.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira – grãos**: quarto levantamento, janeiro 2024 – safra 2023/2024. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 2024. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras>. Acesso em: 09/02/2024.

COSTA, J. G. C.; MELO, L. C.; PEREIRA, H. S.; PELOSO, M. J.; FARIA, L. C.; DÍAZ, J. L. C.; WENDLAND, A.; RAVA, C. A. BRS Esplendor – Common bean cultivar with black grain, upright growth and disease resistance. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 11, n. 1, p. 276-279, 2011.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, v. 1, 2012. 514 p.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

DI PRADO, P. R. C.; FARIA, L. C.; SOUZA, T. L. P. O.; MELO, L. C.; MELO, P. G. S.; PEREIRA, H. S. Genetic control and selection of common bean parents and superior segregant populations based on high iron and zinc contents, seed yield and 100-seed weight. **Genetics and Molecular Research**, v. 18, n. 1, gmr18146, 2019.

DIAS, P. A. S.; MELO, P. G. S.; MELO, L. C.; SOUZA, T. L. P. O.; FARIA, L. C.; FERREIRA, E. P. B.; PEREIRA, H. S. Production and disease resistance of elite lines previously selected using mineral nitrogen fertilization cultivated with natural versus artificial nitrogen supplementation. **Genetics and Molecular Research**, v. 19, n. 2, gmr18491, 2020.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa, 2018. 356p.

FARIA, L. C.; MELO, P. G. S.; PEREIRA, H. S.; PELOSO, M. J. D.; BRÁS, A. J. B. P.; MOREIRA, J. A. A.; CARVALHO, H. W. L.; MELO, L. C. Genetic progress during 22 years of improvement of carioca-type common bean in Brazil. **Field Crops Research**, v. 142, n. 1, p. 68-74, 2013.

FARID, M.; NAVABI, A. N₂ fixing ability of different dry bean genotypes. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 95, n. 1, p. 1243-1257, 2015.

FARID, M.; EARL, H. J.; PAULS, K. P.; NAVABI, A. Response to selections for improved nitrogen fixations in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Euphytica**, v. 213, n. 99, p. 2-13, 2017.

- FERREIRA, L. U.; MELO, P. G. S.; VIEIRA, R. F.; LOBO JÚNIOR, M.; PEREIRA, H. S.; MELO, L. C.; SOUZA, T. L. P. O. Combining ability as a strategy for selection common bean parents and populations resistant to white mold. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 18, n. 1, p. 276-283, 2018.
- FIGUEIREDO, M. A.; OLIVEIRA, D. P.; SOARES, B. L.; MORAIS, A. R.; MOREIRA, F. M. S.; ANDRADE, M. J. B. Nitrogen and molybdenum fertilization and inoculation of common bean with *Rhizobium* spp. In two oxisols. **Acta Scientiarum**, v. 38, n. 1, p. 85-92, 2016.
- FRANCO, M. C.; CASSINI, S. T.; OLIVEIRA, V. R.; VIEIRA, C.; TSAI, S. M.; CRUZ, C. D. Combining ability for nodulation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes from Andean and Middle American gene pools. **Euphytica**, v. 118, n. 1, p. 265-270, 2001.
- GONÇALVES, J. G. R.; CHIORATO, A. F.; SILVA, D. A.; ESTEVES, J. A. F.; BOSETTI, F.; CABONELL, S. A. M. Análise da capacidade combinatória em feijoeiro comum submetido ao déficit hídrico. **Bragantia**, v. 74, n. 2, p. 149-155, 2015.
- GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 9, n. 4, p. 463-493, 1956.
- HEILIG, J. A.; WRIGHT, E. M.; KELLY, J. D. Symbiotic nitrogen fixation of black and navy bean under organic production systems. **Agronomy Journal**, v. 109, n. 5, p. 2223-2230, 2017.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, v. 65, n. 2-3, p. 151-164, 2000.
- JIANG, Y.; MACLEAN, D. E.; PERRY, G. E.; MARSOLAIS, F.; HILL, B.; PAULS, K. P. Evaluation of beneficial and inhibitory effects of nitrate on nodulation and nitrogen fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Legume Science**, v. 2, n. 3, p. e45, 2020.
- KAMFWA, K.; CICHY, K. A.; KELLY, J. D. Identification of quantitative trait loci for symbiotic nitrogen fixation in common bean. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 132, n. 1, p. 1375-1387, 2019.
- KNUPP, A. M.; FERREIRA, E. P. B.; ARAÚJO, A. P. Variability of nodulation traits in Andean and Mesoamerican common bean gene pools. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 4, p. 252-260, 2017.
- MAIA, S. C. M.; SORATTO, R. P.; LIEBE, S. M.; ALMEIDA, A. Q. Criteria for topdressing nitrogen application to common bean using chlorophyll meter. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 7, p. 512-520, 2017.
- MARTÍNEZ-ROMERO, E. Diversity of *Rhizobium-Phaseolus vulgaris* symbiosis: overview and perspectives. **Plant and Soil**, v. 252, n. 1, p. 11-23, 2003.

- MCKENZIE, R. H.; MIDDLETON, A. B.; SEWARD, K. W.; GAUDIÉL, R.; WILDSCHUT, C.; BREMER, E. Fertilizer responses of dry bean in southern Alberta. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 81, n. 2, p. 343-350, 2001.
- MERCANTE, F. M.; OTSUBO, A. A.; BRITO, O. R. New native Rhizobia strains for inoculation of common bean in the Brazilian Savanna. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 41, n. 1, e0150120, 2017.
- MOURA, L. M.; CARNEIRO, P. C. S.; VALE, N. M.; BARILI, L. D.; SILVA, L. C.; CARNEIRO, J. E. S.; CRUZ, C. D. Diallel analysis to choose parents for black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) breeding. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, n. 3, gmr.15038574, 2016.
- MOURA, L. M.; ANJOS, R. S. R.; BATISTA, R. O.; VALE, N. M.; CRUZ, C. D.; CARNEIRO, J. E. S.; MACHADO, J. C.; CARNEIRO, P. C. S. Combining ability of common bean parents in different seasons, locations and generations. **Euphytica**, v. 214, n. 181, p. 1-13, 2018.
- ORMEÑO-ORRILLO, E.; MENNA, P.; ALMEIDA, L. G. P.; OLLERO, F. J.; NICOLÁS, M. F.; RODRIGUES, E. P.; NAKATANI, A. S.; BATISTA, J. S. S.; CHUEIRE, L. M. O.; SOUZA, R. C.; VASCONCELOS, A. T. R.; MEGÍAS, M.; HUNGRIA, M.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Genomic basis of broad host range and environmental adaptability of *Rhizobium tropici* CIAT 899 and *Rhizobium* sp. PRF 81 wick are used in inoculants for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **BioMed Central**, v. 13, n. 1, p. 1-26, 2012.
- PEREIRA, P. A. A.; MIRANDA, B. D.; ATTEWELL, J. R.; KMIĘCIK, K. A.; BLISS, F. A. Selection for increased nodule number in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) **Plant and Soil**, v. 148, n. 2, p. 203-209, 1993.
- PEREIRA, H. S.; MELO, L. C.; PELOSO, M. J. D.; FARIA, L. C.; WENDLAND, A. Complex interaction between genotypes and growing seasons or carioca common bean in Goiás/Distrito Federal. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 11, n. 1, p. 207-215, 2011.
- PEREIRA, H. S.; ALMEIDA, V. M.; MELO, L. C.; WENDLAND, A.; FARIA, L. C.; PELOSO, M. J. D.; MAGALDI, M. C. S. Influência do ambiente em cultivares de feijoeiro-comum em cerrado com baixa altitude. **Bragantia**, v. 71, n. 2, p. 165-172, 2012.
- PEREIRA, H. S.; MELO, L. C.; FARIA, L. C.; WENDLAND, A.; DEL PELOSO, M. J.; COSTA, J. G. C.; NASCENTE, A. S.; DÍAZ, J. L. C.; CARVALHO, H. W. L.; ALMEIDA, V. M.; MELO, C. L. P.; COSTA, A. F.; POSSE, S. C. P.; MAGALDI, M. C. S.; ABREU, A. F. B.; GUIMARÃES, C. M.; OLIVEIRA, J. P.; MOREIRA, J. A. A.; MARTINS, M.; SOUZA FILHO, B. F. BRS Esteio – Common bean cultivar with black grain, high yield potential and moderate resistance to anthracnose. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 13, n. 1, p. 373-376, 2013.
- PEREIRA, H. S.; MELO, L. C.; FARIA, L. C.; FERREIRA, E. P. B.; MERCANTE, F. M.; WENDLAND, A.; SOUZA, T. L. P. O. Common bean elite lines cultivated under

- nitrogen fertilization and inoculation with *Rhizobium tropici*. **Ciência Rural**, v. 45, n. 12, p. 2168-2173, 2015.
- PEREIRA, D. G.; FARIA, L. C.; SOUZA, T. L. P. O.; MELO, L. C.; PEREIRA, H. S. Selection of parents and segregating populations of black bean resistant to fusarium wilt with high yield and seed weight. **Genetics and Molecular Research**, v. 18, n. 3, gmr18276, 2019.
- POLANIA, J.; POSCHENRIEDER, C.; RAO, I.; BEEBE, S. Estimation of phenotypic variability in symbiotic nitrogen fixation ability of common bean under drought stress using ¹⁵N natural abundance in grain. **European Journal of Agronomy**, v. 79, n. 1, p. 66-73, 2016.
- RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, F. D.; OLIVEIRA, A. C. **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. 2. ed. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2005. 322p.
- REINPRECHT, Y.; SCHRAM, L.; MARSOLAIS, F.; SMITH, T. H.; HILL, B.; PAULS, K. P. Effects of nitrogen application on nitrogen fixation in common bean production. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. 1172, p. 1-19, 2020.
- RESENDE, M. D. V.; DUARTE, J. B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, n. 3, p. 182-194, 2007.
- SCHIPANSKI, M. E.; DRINKWATER, L. E.; RUSSELLE, M. P. Understanding the variability in soybean nitrogen fixation across agroecosystems. **Plant Soil**, v. 329, n. 1, p. 379-397, 2010.
- SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v. 30, n. 6, p. 507-512, 1974.
- SHAMSELDIN, A.; VELÁZQUEZ, E. The promiscuity of *Phaseolus vulgaris* L. (common bean) for nodulation with rhizobia: a review. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 36, n. 63, p. 2-12, 2020.
- SOARES, B. L.; FERREIRA, P. A. A.; RUFINI, M.; MARTINS, F. A. D.; OLIVEIRA, D. P.; REIS, R. P.; ANDRADE, M. J. B.; MOREIRA, F. M. S. Agronomic and economic efficiency of common-bean inoculation with rhizobia and mineral nitrogen fertilization. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, n. 1, e0150235, 2015.
- SORATTO, R. P.; CATUCHI, T. A.; SOUZA, E. F. C.; GARCIA, J. L. N. Plant density and nitrogen fertilization on common bean nutrition and yield. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 3, p. 670-678, 2017.
- SOUSA, M. A.; MESSIAS, M.; ASOBIA, P. C.; FLORES, R. A.; FERREIRA, E. P. B. Agro-economic response of inoculated common bean as affected by nitrogen application along growth cycle. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 43, n. 6, p. 2531-2546, 2022.
- SOUZA, T. L. P. O.; PEREIRA, H. S.; PELOSO, M. J. D.; FARIA, L. C.; COSTA, J. G. C.; WENDLAND, A.; DÍAZ, J. L. C.; MAGALDI, M. C. S.; AGUIAR, M. S.; CARVALHO, H. W. L.; SOUZA FILHO, B. F.; MELO, C. L. P.; COSTA, A. F.;

ALMEIDA, V. M.; POSSE, S. C. P.; MELO, L. C. BRS FP403: high-yielding black-seeded common bean cultivar with superior grain quality and moderate resistance to fusarium wilt. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 19, n. 1, p. 240-244, 2019.

TAMAGNO, S.; SADRAS, V. O.; HAEGELE, J. W.; ARMSTRONG, P. R.; CIAMPITTI, I. A. Interplay between nitrogen fertilizer and biological nitrogen fixation in soybean: implications on seed yield and biomass allocation. **Scientific Reports**, v. 8, n. 17502, p. 1-11, 2018.

TORGA, P. P.; MELO, P. G. S.; PEREIRA, H. S.; FARIA, L. C.; DEL PELOSO, M. J.; MELO, L. C. Interaction of common beans cultivars of the black group with years, locations and sowing seasons. **Euphytica**, v. 189, n. 1, p. 239-248, 2013.

TORRES, M. H. R. M.; SOUZA, T. L. P. O.; MELO, L. C.; PEREIRA, H. S. Combining ability for resistance to Fusarium wilt and yield in black bean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 56, n. 1, e02591, 2021.

WILKER, J.; NAVABI, A.; RAJCAN, I.; MARSOLAIS, F.; HILL, B.; TORKAMANEH, D.; PAULS, P. Agronomic performance and nitrogen fixation of heirloom and conventional dry bean varieties under low-nitrogen field conditions. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 10, n. 952, p. 1-21, 2019.

APÊNDICES

Apêndice A. Médias para os caracteres massa de 100 grãos (M100 - g) e produtividade de grãos (Prod – kg ha⁻¹) nos experimentos I, II, III e IV e na análise conjunta, para as 28 populações e 4 testemunhas de feijão-comum preto avaliadas em ambientes cuja principal fonte de nitrogênio foi a fixação biológica.

Genótipos	Massa de 100 grãos (M100)					Produtividade de grãos (Prod)				
	Exp. I ^a	Exp. II ^b	Exp. III ^c	Exp. IV ^d	Conj	Exp. I	Exp. II	Exp. III	Exp. IV	Conj
CNFP 10807 / BRS Esteio	23,25b	19,78b	24,53c	24,18b	22,93c	2076,50a	952,25b	2654,00a	3326,75a	2252,38a
CNFP 10807 / BRS FP403	24,75a	22,10a	26,28b	24,80b	24,48b	2198,25a	1189,00b	2759,00a	2598,75b	2186,25b
CNFP 10807 / BRS Esplendor	22,00c	18,80b	23,40c	23,05c	21,81d	1985,75b	1168,00b	2928,25a	2761,00b	2210,75b
CNFP 10807 / CNFP15171	22,50c	18,63b	22,78d	23,33c	21,81d	2206,00a	1111,50b	2724,50a	3217,25a	2314,81a
CNFP 10807 / CNFP 15188	25,50a	20,90a	24,13c	24,18b	23,68c	2281,50a	931,50b	2332,75b	3179,00a	2181,19b
CNFP 10807 / CNFP 15310	23,00c	19,68b	23,75c	21,95d	22,09d	2332,00a	1128,75b	2598,50a	3529,25a	2397,13a
CNFP 10807 / CNFP 15295	22,75c	18,95b	23,30c	23,13c	22,03d	1965,25b	962,25b	1956,25b	2716,75b	1900,13b
BRS Esteio/BRS FP403	25,00a	21,73a	27,35a	25,38a	24,86b	1819,00b	886,25b	2523,50a	2774,25b	2000,75b
BRS Esteio / BRS Esplendor	22,00c	19,28b	22,63d	21,80d	21,43e	2219,75a	1461,00a	2266,25b	3430,00a	2344,25a
BRS Esteio / CNFP 15171	24,00b	19,58b	24,18c	22,63c	22,59d	2037,75a	1026,75b	2022,75b	2914,25b	2000,38b
BRS Esteio / CNFP 15188	23,75b	20,90a	25,58b	25,18a	23,85c	2178,25a	1186,75b	2136,25b	3111,25b	2153,13b
BRS Esteio / CNFP 15310	23,00c	19,08b	23,60c	22,33d	22,00d	1989,00b	1097,75b	2519,50a	3136,75b	2185,75b
BRS Esteio / CNFP 15295	24,50a	21,23a	25,63b	25,43a	24,19b	1827,75b	996,00b	2643,00a	3132,75b	2149,88b
BRS FP403 / BRS Esplendor	24,50a	21,60a	23,63c	24,48b	23,55c	2093,50a	1424,50a	2829,00a	3524,75a	2467,94a
BRS FP403 / CNFP 15171	22,50c	19,25b	23,70c	23,90b	22,34d	1529,75b	1200,00b	1994,50b	3102,50b	1956,69b
BRS FP403 / CNFP 15188	24,00b	24,03a	24,45c	24,45b	24,23b	1954,00b	1253,75a	2093,25b	2482,00b	1945,75b
BRS FP403 / CNFP 15310	25,25a	21,83a	26,53b	23,50c	24,28b	2388,25a	1164,25b	3017,25a	2894,75b	2366,13a
BRS FP403 / CNFP 15295	24,50a	20,83a	24,73c	23,40c	23,36c	1929,50b	1182,00b	2462,50a	2907,00b	2120,25b
BRS Esplendor / CNFP 15171	20,75d	18,40b	21,88e	22,30d	20,83e	1810,75b	1272,25a	2632,75a	3759,00a	2368,69a

Apêndice A (Cont.). Médias para os caracteres massa de 100 grãos (M100 - g) e produtividade de grãos (Prod – kg ha⁻¹) nos experimentos I, II, III e IV e na análise conjunta, para as 28 populações e 4 testemunhas de feijão-comum preto avaliadas em ambientes cuja principal fonte de nitrogênio foi a fixação biológica.

BRS Esplendor / CNFP 15188	23,68b	20,30b	21,63e	23,55c	22,29d	2459,25a	1473,50a	2529,25a	3860,25a	2580,56a
BRS Esplendor /CNFP 15310	21,00d	18,83b	22,70d	22,05d	21,14e	1866,75b	1083,75b	2450,00a	3436,50a	2209,25b
BRS Esplendor / CNFP 15295	21,75c	20,28b	22,03e	21,93d	21,49e	1979,75b	1437,75a	2885,00a	3320,75a	2405,81a
CNFP 15171 / CNFP 15188	23,68b	20,58a	24,50c	24,53b	23,32c	1247,75b	1197,00b	2183,50b	3337,75a	1991,50b
CNFP 15171 / CNFP 15310	21,50d	19,15b	23,00d	21,83d	21,37e	1792,75b	1589,00a	2456,75a	3554,00a	2348,13a
CNFP 15171 / CNFP 15295	22,50c	18,43b	23,33c	22,55c	21,70d	1734,00b	1456,50a	2781,25a	3494,75a	2366,63a
CNFP 15188 / CNFP 15310	23,50b	19,43b	24,43c	22,05d	22,35d	1924,00b	653,75b	2851,75a	2841,00b	2067,63b
CNFP 15188 / CNFP 15295	24,00b	20,13b	24,33c	23,80b	23,06c	2056,75a	928,25b	2571,00a	2573,00b	2032,25b
CNFP 15310 / CNFP 15295	22,25c	19,00b	22,88d	22,65c	21,69d	2364,25a	1192,00b	2314,25b	2883,75b	2188,56b
BRS Esplendor	20,00d	18,20b	20,88e	21,15d	20,06f	1818,50b	1426,50a	2744,00a	3091,00b	2270,00a
BRS Esteio	23,50b	19,78b	25,58b	23,33c	23,04c	2250,75a	989,25b	2186,00b	2997,50b	2105,88b
BRS FP403	26,25a	21,73a	28,15a	26,53a	25,66a	1738,00b	1345,25a	2517,00a	3683,75a	2321,00a
IPR Uirapuru	22,50c	19,35b	21,98e	23,03c	21,71d	2106,50a	1384,00a	2293,25b	3250,00a	2258,44a
Média das populações	23,26	20,09	23,96	23,37	22,67	2008,85	1164,50	2504,16	3135,71	2203,30
Média das testemunhas	23,06	19,76	24,14	23,51	22,62	1978,44	1286,25	2435,06	3255,56	2238,83
Máximo	26,25	24,03	28,15	26,53	25,66	2459,25	1589,00	3017,25	3860,25	2580,56
Mínimo	20,00	18,20	20,88	21,15	20,06	1247,75	653,75	1956,25	2482,00	1900,13

^aAvaliação da F₂ em Santo Antônio de Goiás no inverno de 2015; ^bAvaliação da F₃ em Santo Antônio de Goiás no inverno de 2016; ^cAvaliação da F₄ em Santo Antônio de Goiás no inverno de 2017; ^dAvaliação da F₄ em Brasília nas águas de 2017; Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de médias de Scott Knott (5% de probabilidade).

Apêndice B. Estimativas dos efeitos de capacidade específica de combinação (s_{ij}) para os caracteres massa de 100 grãos (M100 - g) e produtividade de grãos (Prod – kg ha⁻¹) nos experimentos I, II, III e IV e na análise conjunta, para as 28 populações e 4 testemunhas de feijão-comum preto avaliadas em ambientes cuja principal fonte de nitrogênio foi a fixação biológica.

Genótipos	Massa de 100 grãos (M100)					Produtividade de grãos (Prod)				
	Exp. I ^a	Exp. II ^b	Exp. III ^c	Exp. IV ^d	Conj	Exp. I	Exp. II	Exp. III	Exp. IV	Conj
CNFP 10807 / BRS Esteio	-0,61*	-0,16	-0,47*	0,08	-0,29*	-110,58	-3,42	206,46*	315,23*	101,93*
CNFP 10807 / BRS FP403	0,06	0,53	0,75*	0,20	0,39*	50,46	117,83	159,17	-155,77	42,93
CNFP 10807 / BRS Esplendor	-0,22	-0,46	1,00*	0,25	0,14	-245,91*	-73,33	188,17*	-628,23*	-189,82*
CNFP 10807 / CNFP15171	-0,01	-0,05	-0,53*	0,21	-0,10	317,13*	-51,88	271,84*	-53,19	120,98*
CNFP 10807 / CNFP 15188	1,21*	0,18	-0,13	-0,05	0,30*	102,17	-27,13	-103,54	241,11*	53,16
CNFP 10807 / CNFP 15310	0,14	0,50	-0,15	-0,39*	0,03	60,09	122,67	-89,49	442,73*	134,00*
CNFP 10807 / CNFP 15295	-0,57*	-0,54	-0,49*	-0,30	-0,47*	-173,37*	-84,75	-632,62*	-161,89	-263,16*
BRS Esteio /BRS FP403	0,02	-0,30	0,94*	0,40*	0,26*	-179,24*	-212,17*	121,67	-63,14	-83,22*
BRS Esteio / BRS Esplendor	-0,51*	-0,44	-0,66*	-1,39*	-0,75*	137,63*	192,42*	-275,83*	-42,10	3,03
BRS Esteio / CNFP 15171	1,20*	0,44	-0,02	-0,88*	0,19	298,42*	-163,88*	-231,91*	-439,06*	-134,11*
BRS Esteio / CNFP 15188	-0,84*	-0,28	0,44*	0,56*	-0,03	148,46*	200,88*	-102,04	90,48	84,45*
BRS Esteio / CNFP 15310	-0,15	-0,55	-1,19*	-0,39*	-0,57*	-133,37	64,42	29,51	-32,64	-18,02
BRS Esteio / CNFP 15295	0,89*	1,29*	0,96*	1,62*	1,19*	-161,33*	-78,25	252,13*	171,23	45,95
BRS FP403 / BRS Esplendor	1,15*	0,25	-0,19	0,79*	0,50*	50,67	40,42	134,63	309,65*	133,84*
BRS FP403 / CNFP 15171	-1,14*	-1,52*	-1,03*	-0,10	-0,95*	-170,29*	-106,13	-412,45*	6,19	-170,67*
BRS FP403 / CNFP 15188	-1,42*	1,22*	-1,22*	-0,67*	-0,52*	-36,49	152,38*	-297,33*	-281,77*	-115,80*
BRS FP403 / CNFP 15310	1,27*	0,56	1,22*	0,28	0,83*	305,17*	15,42	374,96*	-17,64	169,48*
BRS FP403 / CNFP 15295	0,06	-0,74*	-0,47*	-0,91*	-0,52*	-20,29	-7,75	-80,66	202,48	23,45
BRS Esplendor / CNFP 15171	-0,42	-0,06	0,28	0,09	-0,03	26,84	-204,04*	85,55	27,98	-15,92
BRS Esplendor / CNFP 15188	0,73*	-0,20	-0,92*	0,23	-0,04	384,88*	201,96*	-1,58	461,77*	261,76*
BRS Esplendor /CNFP 15310	-0,51*	-0,12	0,52*	0,62*	0,13	-300,20*	-235,25*	-332,54*	-110,60	-244,65*

Apêndice B (Cont.). Estimativas dos efeitos de capacidade específica de combinação (s_{ij}) para os caracteres massa de 100 grãos (M100 - g) e produtividade de grãos (Prod – kg ha⁻¹) nos experimentos I, II, III e IV e na análise conjunta, para as 28 populações e 4 testemunhas de feijão-comum preto avaliadas em ambientes cuja principal fonte de nitrogênio foi a fixação biológica.

BRS Esplendor / CNFP 15295	-0,22	1,02*	-0,05	-0,59*	0,04	-53,91	77,83	201,59*	-18,48	51,76
CNFP 15171 / CNFP 15188	0,44	0,66	1,04*	0,89*	0,76*	-483,83*	3,42	-59,91	58,07	-120,56*
CNFP 15171 / CNFP 15310	-0,31	0,78*	-0,10	0,08	0,11	-31,41	347,96*	-38,37	125,69	100,97*
CNFP 15171 / CNFP 15295	0,24	-0,25	0,34	-0,28	0,01	43,13	174,54*	385,26*	274,32*	219,31*
CNFP 15188 / CNFP 15310	-0,09	-0,99*	0,39*	-0,81*	-0,37*	-190,62*	-382,54*	373,01*	-254,77*	-113,73*
CNFP 15188 / CNFP 15295	-0,04	-0,59	0,40*	-0,15	-0,10	75,42	-148,96*	191,38*	-314,89*	-49,26
CNFP 15310 / CNFP 15295	-0,36	-0,18	-0,69*	0,60*	-0,16	290,34*	67,33	-317,08*	-152,77	-28,04
$\sigma (s_{ij})^1$	0,48	0,71	0,36	0,39	0,25	134,63	124,37	175,39	208,72	81,88
$\sigma (s_{ij} - s_{ik})^2$	0,74	1,09	0,56	0,59	0,39	205,65	189,98	267,91	318,83	125,45
$\sigma (s_{ij} - s_{kl})^3$	0,66	0,97	0,50	0,53	0,35	183,94	169,92	239,63	285,17	112,21

^aAvaliação da F₂ em Santo Antônio de Goiás no inverno de 2015; ^bAvaliação da F₃ em Santo Antônio de Goiás no inverno de 2016; ^cAvaliação da F₄ em Santo Antônio de Goiás no inverno de 2017; ^dAvaliação da F₄ em Brasília nas águas de 2017; ¹Erro associado à s_{ij} ; ²Erro associado à diferença na capacidade específica de combinação para $i \neq k$ e $j \neq k$; ³Erro associado à diferença na capacidade específica de combinação para $i \neq k$, l e $j \neq k$, l .

4. PARÂMETROS GENÉTICOS E SELEÇÃO INDIRETA DE LINHAGENS ELITE PARA EFICIÊNCIA NA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM FEIJÃO-COMUM

RESUMO

A capacidade de fixação biológica de nitrogênio (FBN) do feijão-comum é caracterizada como baixa em relação às demais leguminosas. A formação e condução de linhagens em ambientes cuja principal fonte de nitrogênio (N) seja a FBN, pode auxiliar na seleção de genótipos específicos para esses ambientes. Os objetivos do trabalho foram: (i) avaliar se a condução dos genótipos em ambientes cuja principal fonte de N é a FBN, foi eficiente para selecionar linhagens de bom desempenho simbiótico, usando a produtividade de grãos como critério de seleção; (ii) verificar a relação que os caracteres relacionados à FBN estabelecem entre si e com os caracteres agrônômicos. Foram avaliadas 76 linhagens de uma população resultante do cruzamento entre genitores com alelos favoráveis para produtividade de grãos e FBN. Essa população foi conduzida em solos cuja principal fonte de N foi a inoculação com rizóbio, até a geração F₅, fase em que as linhagens foram selecionadas. As 76 linhagens e 5 testemunhas foram avaliadas na safra de inverno de 2021 e 2022, em Santo Antônio de Goiás-GO, em condições de inoculação com rizóbio. O delineamento experimental utilizado foi o látice triplo 9 x 9. Foram avaliados a produtividade de grãos, massa de 100 grãos e o aspecto visual de grãos. Foi realizada a seleção direta das dez melhores e dez piores linhagens para o caráter produtividade de grãos. As vinte linhagens selecionadas foram avaliadas em dois ensaios de casa de vegetação, com cinco testemunhas, em delineamento de blocos completos casualizados com quatro repetições. Os caracteres avaliados foram teor de clorofila, massa seca da parte aérea e da raiz, número de nódulos, massas seca e específica de nódulos. Foi realizado o teste de Wilcoxon para comparação das médias dos dois grupos de linhagens, análises de correlação genéticas e fenotípicas e de componentes principais para verificar a existência de associação entre os caracteres. Houve diferença significativa entre os grupos de linhagens apenas para a massa específica de nódulos, o que indica que o desempenho simbiótico das linhagens não diferiu estatisticamente para a maioria dos caracteres. O resultado aponta que a condução da população segregante em ambientes cuja principal fonte de N foi a FBN, foi eficiente para manter na população apenas genótipos de melhor capacidade simbiótica e promover altos ganhos para produtividade de grãos. Houve importantes correlações significativas entre os caracteres avaliados. O teor de clorofila e a massa seca da parte aérea foram indicados para seleção indireta de genótipos de melhor desempenho simbiótico. Oito linhagens foram selecionadas para os ensaios avançados, com o objetivo final de lançar cultivares de feijão-comum do tipo preto recomendadas para ambientes de FBN.

Palavras-chaves: *Phaseolus vulgaris* L., *Rhizobium*, fixação simbiótica de nitrogênio, rizóbios, nodulação, FBN.

ABSTRACT

GENETIC PARAMETERS AND INDIRECT SELECTION OF COMMON BEAN ELITE LINES FOR NITROGEN FIXATION EFFICIENCY.

The nitrogen fixation capacity of common bean is characterized as low compared to other legumes. The development and testing of lines in environments where the main nitrogen source is biological fixation can aid in selecting specific genotypes for these environments. The objectives of this study were: (i) to evaluate if the cultivation of genotypes in environments where the main nitrogen source is biological fixation was efficient in selecting lines with good symbiotic performance, using grain yield as a selection criterion; (ii) to verify the relationship that traits related to biological nitrogen fixation establish among themselves and with agronomic traits. Seventy-six lines from a population resulting from the crossing of parents with favorable alleles for grain yield and biological nitrogen fixation were evaluated. This population was grown in soils where the main nitrogen source was inoculation with rhizobia until generation F₅, when the lines were selected. The 76 lines and 5 checks were evaluated in the winter seasons of 2021 and 2022, in Santo Antônio de Goiás-GO, under rhizobia inoculation conditions. The experimental design used was a triple lattice 9 x 9. Grain yield, 100-grain weight, and visual grain aspect were evaluated. Direct selection of the ten best and ten worst lines for grain yield was performed. The twenty selected lines were evaluated in two greenhouse trials, with five checks, in a randomized complete block design with four replications. The evaluated traits were chlorophyll content, shoot and root dry weight, nodule number, and dry and specific nodule weights. Wilcoxon test was conducted to compare the means of the two groups of lines, as well as genetic and phenotypic correlation analyses and principal component analyses to verify the existence of associations between the traits. There was a significant difference between the groups of lines only for specific nodule weight, indicating that the symbiotic performance of the lines did not statistically differ for most traits. The result indicates that the cultivation of the segregating population in environments where the main nitrogen source was biological fixation was efficient in maintaining in the population only genotypes with better symbiotic capacity and promoting high gains for grain yield. There were important significant correlations between the evaluated traits. Chlorophyll content, shoot dry weight and specific nodule weight were indicated for indirect selection of genotypes with better symbiotic performance. Eight lines were selected for advanced trials, with the ultimate goal of releasing recommended black common bean cultivars for biological nitrogen fixation environments.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L., *Rhizobium*, symbiotic nitrogen fixation, rhizobia, nodulation, BNF.

4.1 INTRODUÇÃO

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é uma característica típica da família Fabaceae. Nesse processo simbiótico, as bactérias, popularmente conhecidas como rizóbios, habitam os nódulos radiculares e fixam o nitrogênio atmosférico (N₂), que é utilizado pelas plantas em troca de carboidratos (Wilker et al., 2019). Dentre as vantagens

da FBN estão a redução dos custos de produção para os agricultores, pois a inoculação com rizóbio é mais econômica em relação a adubação com nitrogênio (N) mineral, o que pode aumentar o rendimento de grãos em ambientes marginais e reduzir a contaminação das águas subterrâneas pelo processo de lixiviação do N mineral aplicado (Beaver e Osorno, 2009).

No entanto, a eficiência simbiótica varia entre as leguminosas, e o feijão-comum é frequentemente caracterizado como pobre fixador de nitrogênio (Franco et al., 2001; Martínez-Romero, 2003; Kamfwa et al., 2019; Reinprecht et al., 2020). A baixa FBN do feijão-comum pode ser atribuída, em parte, ao curto ciclo da cultura (cerca de 90 dias) em comparação com outras leguminosas, como a soja (aproximadamente 120 dias) (Beaver e Osorno, 2009), à nodulação promíscua com rizóbios nativos (Moura et al., 2022) e à sensibilidade desse processo biológico a estresses abióticos (Hungria e Vargas, 2000). Além disso, os baixos esforços dos programas de melhoramento anteriores para melhorar a FBN no feijão-comum e a complexa arquitetura genética desse processo biológico, também contribuíram para que poucos avanços fossem obtidos para a cultura (Kamfwa et al., 2019).

A capacidade de fixação de nitrogênio não tem sido uma prioridade dentro da rotina da maioria dos programas de melhoramento do feijão-comum. Apesar da existência de variabilidade genética para FBN tanto em genótipos silvestres e tradicionais (Knupp et al., 2017; Wilker et al., 2019; Wilker et al., 2020) como em cultivares e linhagens elite (Farid e Navabi, 2015; Pereira et al., 2015; Heilig et al., 2017b; Dias et al., 2020), a incorporação dessa variabilidade em cultivares tem tido pouco sucesso (Rodiño et al., 2011).

Desenvolver um método de triagem da capacidade de FBN que possa ser facilmente incorporado à rotina dos programas de melhoramento, é essencial para acelerar o progresso na seleção de cultivares de feijão-comum de maior eficiência simbiótica (Heilig et al., 2017b). Para isso, um dos principais fatores que se deve considerar é a condução dos genótipos em solos cuja principal fonte de N seja a FBN, já que a fertilização com N mineral, comprovadamente, reduz a capacidade de fixação simbiótica em leguminosas (Schipanski et al., 2010; Jiang et al., 2020; Reinprecht et al., 2020; Sousa et al., 2022).

Grande parte dos caracteres relacionados à FBN são de difícil mensuração (Oladzad et al., 2020; Nagpal et al., 2023). A necessidade de fenotipagem em todas as gerações segregantes pode elevar os custos com mão-de-obra, estrutura adequada e tempo

disponível. Durante as gerações iniciais conduzidas sob inoculação com rizóbio, como o volume de genótipos é alto, a seleção com base em caracteres de importância para a cultura e rotineiramente fenotipados pelos programas de melhoramento, como a produtividade de grãos, pode maximizar a eficiência da seleção e da alocação de recursos. A fenotipagem de caracteres relacionados à FBN, que é fundamental para a recomendação segura de cultivares para esse fim, poderia ser realizada em gerações avançadas, com um menor volume de genótipos. No entanto, o uso desta abordagem depende de estudos que avaliem se a produtividade de grãos pode ser um indicativo confiável da capacidade de FBN nas condições específicas de cada estudo.

A seleção de caracteres adequados para rastrear a variabilidade genética associada à FBN é importante para os melhoristas, mas tem recebido pouca atenção (Rodiño et al., 2011). A mensuração da capacidade de FBN pode ser feita de forma direta, por meio da obtenção da quantidade de nitrogênio derivado da atmosfera (Ndfa), ou de forma indireta, a partir da contagem do número de nódulos, obtenção da biomassa das plantas, biomassa nodular e teor de clorofila (Jiang et al., 2020). Existem vários métodos para mensuração direta da FBN (técnica da abundância natural de ^{15}N , diluição isotópica de ^{15}N , redução de acetileno, etc.), que apesar de constituírem a forma mais precisa, apresentam alto custo, devido a necessidade de equipamentos específicos para as análises (Fonseca-López et al., 2020).

Variabilidade genética associada ao desenvolvimento de raízes e nódulos já foi relatada para o feijão-comum (Rodiño et al., 2011; Ramaekers et al., 2013; Farid e Navabi, 2015; Heilig et al., 2017a; Jiang et al., 2020). Assim, os caracteres utilizados para mensuração indireta da FBN, podem ser vantajosos por não necessitarem de equipamentos complexos para avaliações, apresentarem menor custo e maior rapidez na obtenção dos resultados (Fonseca-López et al., 2020). No entanto, são necessários mais estudos no sentido de detectar a relação que estes caracteres estabelecem entre si e com a produtividade de grãos.

Dessa forma, é crucial compreender a diversidade genética para rendimento de grãos, FBN e caracteres relacionados, bem como as associações existentes entre eles, para melhorar eficientemente a fixação de nitrogênio no feijão-comum, sem comprometer sua produtividade. Nesse sentido, os objetivos deste estudo são (i) avaliar se a condução dos genótipos, por várias gerações, em ambientes cuja principal fonte de N é a FBN, foi eficiente para selecionar genótipos de bom desempenho simbiótico, usando a

produtividade de grãos como critério de seleção; (ii) verificar a relação que os caracteres relacionados à FBN estabelecem entre si e com os caracteres agronômicos.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Experimentos de campo

A população de feijão-comum de grãos pretos BRS FP403 / BRS Esplendor foi utilizada nesse estudo para obtenção de linhagens. Ambas as cultivares genitoras foram selecionadas a partir de trabalho realizado por Dias et al. (2020), em que os genótipos foram avaliados tanto em condições de adubação mineral nitrogenada como de inoculação com rizóbio. No estudo, as cultivares alcançaram bons rendimentos de grãos, independentemente da fonte de N utilizada. Além disso, a cultivar BRS FP403 apresentou bons resultados para o número e peso específico de nódulos, e a cultivar BRS Esplendor foi resistente a algumas doenças.

A população foi sintetizada em 2015, em Santo Antônio de Goiás, a partir de cruzamentos em esquema dialélico completo entre oito genitores e foi selecionada entre as 28 populações obtidas. As avaliações em campo ocorreram em solos com baixo teor de nitrogênio e com inoculação com rizóbio, durante as seguintes gerações/ambientes: geração F₂, na safra de inverno de 2015; geração F₃, na safra de inverno de 2016; geração F₄, na safra de inverno de 2017, em Santo Antônio de Goiás – GO; e geração F₄, na safra das águas de 2017, em Brasília-DF. As progênies dessa população apresentaram altas capacidades gerais e específicas de combinação, além de boas médias para produtividade de grãos e massa de 100 grãos.

Da população selecionada, foram colhidas 76 plantas individuais na geração F₅, que compuseram o material genético do presente estudo. As sementes colhidas foram utilizadas para multiplicação, realizada em casa de vegetação, em Santo Antônio de Goiás – GO. As 76 linhagens foram avaliadas na geração F_{5:7}, na safra de inverno de 2021 e na geração F_{5:8}, na safra de inverno de 2022, em Santo Antônio de Goiás – GO, juntamente com cinco testemunhas: linhagem não nodulante NORH 54, cultivares genitoras BRS FP403 e BRS Esplendor e linhagens elite CNFP 10793 e CNFP 7994. Os experimentos foram instalados em delineamento látice triplo 9 x 9, com parcelas de três linhas de três metros de comprimento, espaçadas de 0,5 m.

O clima das regiões em que os experimentos foram conduzidos é Aw, tropical de savana, conforme a classificação de Köppen e o solo predominante é o Latossolo Vermelho-Escuro, de textura argilosa e relevo plano (Embrapa, 2018). Por ser destinada à pesquisa, a área experimental é caracterizada pelo uso intensivo do solo e baixos níveis de matéria orgânica. As análises químicas realizadas antes da instalação dos experimentos se encontram na Tabela 1. Foi realizada adubação apenas com fertilizantes não nitrogenados (P_2O_5 e K_2O) no plantio, conforme a análise de solo.

Tabela 4.1. Resultados da análise química do solo antes da instalação dos experimentos de campo (Inverno/2021 e Inverno/2022) e casa de vegetação (0 - 20 m de profundidade do solo).

Experimento	pH	Ca	Mg	Al	H+Al	P	K	Cu	Zn	Fe	Mn	MO ¹
	CaCl ₂	cmol dm ⁻³				mg dm ⁻³						
Inverno/2021	4,9	1,3	0,7	0,1	2,5	16	51	1,5	6,7	39,5	10,3	28 g dm ⁻³
Inverno/2022	4,9	2,2	0,7	0,1	3,4	38,6	32,7	1,8	5,9	38,2	16	24 g dm ⁻³
Casa de Vegetação	5,9	0,9	0,5	0	1,2	0,6	18	2,3	1	33	13	0,20%

¹Matéria Orgânica.

A inoculação foi realizada com inoculante líquido preparado pelo Laboratório de Biologia do Solo da Embrapa Arroz e Feijão, composto pela mistura 1:1:1 das estirpes de *Rhizobium tropici* (SEMIA 4077 e 4088) e de *R. freirei* (SEMIA 4080), registradas junto ao MAPA para o feijão-comum. O inoculante apresenta uma densidade de 10^9 células mL⁻¹. A aplicação foi realizada no sulco de semeadura na ocasião do plantio, com auxílio de pulverizador de jato dirigido acoplado à plantadeira de parcelas, com dosagem de 100 ml ha⁻¹.

Os caracteres avaliados foram a produtividade de grãos, a massa de 100 grãos e o aspecto visual dos grãos. A produtividade de grãos, ajustada para 13% de umidade, foi obtida em g parcela⁻¹, ao realizar a pesagem dos grãos colhidos de todas as plantas das três linhas, com posterior conversão para kg ha⁻¹. A massa de 100 grãos foi obtida coletando-se 100 grãos, aleatoriamente, de cada parcela, para posterior pesagem e determinação da massa em gramas (g). O aspecto visual de grãos foi avaliado após a colheita, por meio de escala de notas variando de 1 a 3 na qual a nota 1 refere-se ao típico grão preto (cor preta escura, sem brilho e sem defeitos de forma) e a nota 3 refere-se ao grão de coloração desuniforme (arrochados), com brilho e com defeitos de forma.

Para os ensaios de campo, foram realizadas análises de variância individuais e conjuntas para todos os caracteres. O efeito de genótipos foi considerado aleatório e o

efeito de ambientes fixo. Para realizar a análise conjunta dos experimentos foi verificada a homogeneidade das variâncias, por meio da relação entre o maior e o menor quadrado médio do resíduo (Pimentel-Gomes, 2009). A acurácia seletiva (AS) foi estimada para auxiliar na avaliação da qualidade experimental (Resende e Duarte, 2007). Os parâmetros genéticos, variância genética (σ_g^2), variância da interação de genótipos x anos (σ_{ga}^2) e herdabilidade em nível de médias (h^2), foram estimados. Foi realizada a seleção direta das dez melhores e dez piores linhagens para produtividade de grãos e estimado o ganho esperado com a seleção direta (GS%), considerando intensidade de seleção de 13% (Cruz et al., 2012).

4.2.2 Experimentos de casa de vegetação

Foram conduzidos experimentos em ambiente controlado para determinar o desempenho das dez melhores e dez piores linhagens para caracteres relacionados à FBN e verificar se existe relação com os resultados de produtividade de grãos obtidos em campo. Para isso, as vinte linhagens selecionadas (dez melhores e dez piores) foram avaliadas juntamente com cinco testemunhas: a linhagem não nodulante NORH 54, as cultivares genitoras BRS FP403 e BRS Esplendor, a linhagem elite CNFP 7994 e a cultivar de grãos carioca BRS Sublime, que apresentaram alta nodulação em outros estudos.

As unidades experimentais foram compostas por vasos plásticos de 5 L, preenchidos com uma mistura de 2:1 de areia e solo. A adubação de plantio com fertilizantes não nitrogenados (P_2O_5 e K_2O) foi realizada conforme a análise química do solo, que pode ser visualizada na Tabela 1. Antes do plantio, as sementes passaram por um processo de desinfecção, como descrito por Kipe-Nolt et al. (1992). Foram semeadas cinco sementes por vaso e sete dias após a emergência das plantas foi efetuado o desbaste, deixando duas plantas por vaso. A inoculação das plantas também foi realizada aos sete dias após a emergência, com auxílio de uma pipeta, utilizando 1 mL planta⁻¹ do inoculante líquido produzido pelo Laboratório de Biologia do Solo da Embrapa Arroz e Feijão, cujas características foram descritas no item anterior.

Foram realizados dois experimentos, um com plantio em abril e outro em julho de 2023. Durante o período de desenvolvimento, as plantas foram mantidas em casa de vegetação, localizada na área experimental da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás, em Goiânia-GO. A irrigação foi realizada por sistema de gotejamento.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com quatro repetições. As avaliações foram realizadas quando pelo menos uma planta da parcela estava com pelo menos uma flor aberta (estágio R6).

O teor de clorofila (TC – Índice de Clorofila Falker – ICF) das plantas de cada parcela foi medido por meio de clorofilômetro digital portátil (ClorofiLog – CFL 1030 Falker). Foram realizadas três leituras por planta, utilizando a última folha completamente expandida. A massa seca da parte aérea (MSPA – g planta⁻¹) foi obtida retirando-se a parte aérea das duas plantas de cada parcela com auxílio de um alicate de poda a 1 cm do solo, e acondicionando-a em saco de papel devidamente identificado. Os sacos de papel foram levados para estufa de circulação forçada de ar por 72 horas a 65°C. Após este período, as amostras foram pesadas para determinação da massa.

Após a separação da parte aérea, as raízes foram cuidadosamente retiradas dos vasos, separadas do substrato e lavadas sobre uma peneira em água corrente para eliminação máxima de pedras e impurezas. Em seguida, os nódulos presentes nas raízes foram destacados e contados para determinação do número de nódulos (NN – unidade planta⁻¹). As raízes e os nódulos foram colocados em saquinhos de papel e secos em estufa de circulação forçada de ar, onde permaneceram por 36 horas a 72°C, sendo, após esse período, pesados para determinação da massa seca da raiz (MSRZ – g planta⁻¹) e massa seca de nódulos (MSN – mg planta⁻¹). A massa específica de nódulos (MEN – mg nódulo⁻¹) foi obtida dividindo-se a massa de nódulos secos pelo número de nódulos.

Foram realizadas análises de variância individuais e conjuntas para todos os caracteres. Os efeitos de genótipos e de ambientes foram considerados fixos. Para a análise conjunta foi verificada a homogeneidade das variâncias e estimada a acurácia seletiva. O teste não paramétrico de Wilcoxon foi utilizado para comparação das médias dos grupos de melhores e piores linhagens para cada caráter obtido em casa de vegetação. As médias foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Para as dez melhores e dez piores linhagens e duas testemunhas (BRS FP403 e BRS Esplendor) em comum nos experimentos, em campo e em casa de vegetação, obtiveram-se as médias ajustadas (BLUEs), usando a função ‘lm’ e o pacote ‘emmeans’ (Lenth, 2021) do software R (R Core Team, 2022). Os coeficientes de correlação genética entre os caracteres mensurados em experimentos distintos e correlação fenotípica, entre os caracteres mensurados no mesmo experimento foram calculados por meio do pacote ‘metan’ (Olivoto e Lúcio, 2020).

A análise multivariada de componentes principais foi realizada utilizando os pacotes ‘FactoMineR’ (Lê et al., 2008) e ‘factoextra’ (Kassambara e Mundt, 2022) do software R. As análises de correlação e de componentes principais foram feitas utilizando os dados das 20 linhagens (dez melhores e dez piores) e duas testemunhas (BRS Esplendor e BRS FP403), que eram comuns aos ensaios de campo e de casa de vegetação.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas avaliações de campo, as linhagens apresentaram diferenças significativas para todos os caracteres nas análises individuais, com exceção do aspecto visual de grãos, na safra de inverno de 2021. Os coeficientes de variação ambiental foram de 14,7% e 18,0% para produtividade de grãos, 2,8% e 3,1% para massa de 100 grãos e 17,1% e 18,9% para aspecto visual de grãos, considerando os anos de 2021 e 2022, respectivamente, indicando boa precisão experimental. As estimativas de acurácia seletiva foram consideradas altas para produtividade de grãos ($>0,80$) e muito altas para os demais caracteres ($>0,90$), o que evidencia a alta informatividade dos experimentos (Resende & Duarte, 2007).

Foram detectadas diferenças significativas entre os genótipos para todos os caracteres na análise conjunta (Tabela 4.2). A presença de variabilidade genética entre as linhagens e testemunhas avaliadas em ambientes inoculados, indica a possibilidade de seleção de genótipos superiores. O efeito de anos foi significativo para produtividade de grãos e massa de 100 grãos, o que aponta que os fatores climáticos presentes nos dois anos de avaliação afetaram a expressão destes caracteres. Quanto ao aspecto visual dos grãos, não foi observada diferença estatística entre os anos, o que pode ser confirmado pela semelhança entre as médias dos dois anos (1,04 e 1,05).

A interação linhagens x anos foi significativa para produtividade de grãos e massa de 100 grãos (Tabela 4.2), indicando um comportamento diferencial das linhagens entre os anos, o que foi relatado por outros autores em avaliações sob inoculação com rizóbio (Pereira et al., 2015; Barbosa et al., 2018; Dias et al., 2020). No entanto, a interação linhagens x anos não foi significativa para o aspecto visual de grãos. Para o feijão preto, a coloração dos grãos varia conforme a umidade na colheita, de forma que, quanto menor a umidade, maior a uniformidade de cor dos grãos. Como na safra de inverno a umidade é baixa, era esperado que as linhagens respondessem de forma semelhante, nos dois anos, para este caráter.

Tabela 4.2. Quadrados médios das análises de variância conjuntas para os caracteres produtividade de grãos (PROD – kg.ha⁻¹), massa de 100 grãos (M100 – g) e aspecto visual de grãos (AVG – escala de notas de 1 a 3) avaliados em 76 linhagens e 5 testemunhas, em Santo Antônio de Goiás-Goiás, na safra de inverno de 2021 e 2022, em ambientes cuja principal fonte de nitrogênio foi a fixação biológica.

Fonte de Variação	GL ¹	PROD	M100	AVG
Genótipos (G)	80	771406**	9,79**	0,35**
Linhagens (L)	75	697845**	7,96**	0,07**
Testemunhas (T)	4	2280668**	46,05**	4,80**
L vs T	1	251405	2,43*	3,53**
Anos (A)	1	20272323**	633,41**	0,02
G X A	80	240411**	0,67*	0,03
L X A	75	244435**	0,66*	0,03
T X A	4	149893	0,44	0,00
L vs T X A	1	300654	1,89*	0,00
Resíduo	320	134625	0,47	0,04
Média geral	-	2264	22,8	1,05
Média 2021	-	2475	21,7	1,04
Média 2022	-	2054	23,9	1,05
CVe % ²	-	16,24	2,99	18,02
AS ³	-	0,91	0,98	0,95

¹Graus de liberdade; ²Coefficiente de variação experimental; ³Acurácia Seletiva.

** , * : significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste F.

A existência de variabilidade entre as linhagens foi confirmada pelas estimativas de variância genética ($\hat{\sigma}_g^2$) para os caracteres avaliados (Tabela 4.3). Para a análise conjunta, as estimativas de variância da interação genótipos x anos ($\hat{\sigma}_{ga}^2$) foram sempre inferiores às da variância genética, o que aponta que as linhagens foram pouco afetadas pela interação com o ambiente, indicando boas possibilidades de sucesso na seleção de genótipos superiores para fixação biológica de nitrogênio. As estimativas de herdabilidade ao nível de média (\hat{h}^2) variaram de baixas a moderadas para o aspecto visual dos grãos e foram altas para produtividade de grãos e massa de 100 grãos.

Em estudo realizado por Farid et al. (2017), para FBN no feijão-comum, foram encontradas estimativas de herdabilidade para produtividade de grãos de 32% em ambientes sem estresse e de 25% em ambientes com estresse hídrico. De acordo com Ramalho et al. (2012), a variação nas estimativas de herdabilidade pode ocorrer em função das condições ambientais em que estas foram obtidas e da variabilidade genética dos genótipos. Assim, os altos valores encontrados para a herdabilidade da produtividade de grãos podem ter refletido as condições ambientais uniformes em que as plantas foram

cultivadas (Ramalho et al., 2012), o que indica que os ambientes de FBN foram favoráveis para a avaliação das linhagens e que, com base no fenótipo observado, é possível selecionar genótipos superiores para esses ambientes.

Tabela 4.3. Estimativas de variância genética ($\hat{\sigma}_g^2$), variância da interação linhagens x anos ($\hat{\sigma}_{ga}^2$) e herdabilidade ao nível de média (\hat{h}^2) para os caracteres produtividade de grãos (PROD – kg.ha⁻¹), massa de 100 grãos (M100 - g) e aspecto visual de grãos (AVG - escala de notas de 1 a 3) de 76 linhagens de feijão preto avaliadas no inverno de 2021 e 2022 e na análise conjunta (Conj.), em ambientes cuja principal fonte de nitrogênio foi a fixação biológica.

Anos	PROD			M100			AVG		
	$\hat{\sigma}_g^2$	$\hat{\sigma}_{ga}^2$	\hat{h}^2 (%)	$\hat{\sigma}_g^2$	$\hat{\sigma}_{ga}^2$	\hat{h}^2 (%)	$\hat{\sigma}_g^2$	$\hat{\sigma}_{ga}^2$	\hat{h}^2 (%)
2021	149156	-	77,2	1,03	-	89,4	0,004	-	25,5
2022	75187	-	62,2	1,53	-	89,0	0,007	-	34,3
Conj.	93870	18301	80,7	1,25	0,03	94,1	0,006	-0,001	49,8

A média geral para produtividade de grãos das 76 linhagens foi de 2264 kg.ha⁻¹, na análise conjunta. Do total de linhagens avaliadas, dezenove (20%) obtiveram produtividade superior ao genitor BRS FP403 (2554 kg.ha⁻¹) e trinta e duas (42%) foram superiores ao genitor BRS Esplendor (2313 kg.ha⁻¹), o que mostra o alto potencial produtivo das linhagens avaliadas e a possibilidade de se tornarem cultivares recomendadas para FBN (Apêndice A). Porém, em outros estudos, as cultivares BRS FP403 e BRS Esplendor obtiveram médias de produtividade de grãos superiores nas safras de inverno, quando avaliadas com adubação mineral nitrogenada (Dias et al., 2020, Torres et al., 2022). Apesar de terem sido selecionadas por seu bom desempenho para FBN, ambas as cultivares genitoras foram desenvolvidas em ensaios com adubação com N mineral, destacando a importância da fonte de N utilizada durante a seleção dos genótipos. Assim, o fato de a população utilizada neste estudo ter sido conduzida, desde a geração F₂, com suprimento de N exclusivo via FBN, pode ser um diferencial na seleção de linhagens altamente produtivas quando em associação com rizóbio.

As dez melhores e dez piores linhagens foram escolhidas a partir da seleção direta para o caráter produtividade de grãos. O intuito dessa seleção foi verificar o tipo de relação existente entre o comportamento das linhagens em campo, para produtividade de grãos e em casa de vegetação, considerando caracteres relacionados à FBN. Como esperado, a seleção das dez piores linhagens gerou alto ganho negativo para a

produtividade de grãos (-18,57%) (Tabela 4.4), com redução de 520 kg.ha⁻¹ em relação à média original.

A seleção das dez melhores linhagens para produtividade de grãos, proporcionou ganho de seleção de 20,36 % para o caráter (Tabela 4.4), o que representa um acréscimo de 571 kg ha⁻¹ em relação à média original. O elevado ganho genético para produtividade pode ser explicado pelas altas estimativas de variância genética e herdabilidade encontradas para o caráter. Conforme Faria et al. (2013), o progresso genético anual para produtividade de grãos foi de 25,2 kg ha⁻¹ ou 1,1 % ao ano, ao longo de 22 anos de melhoramento do feijão-comum preto dentro do programa de melhoramento da Embrapa, o que evidencia o potencial da população em estudo, desenvolvida para FBN.

No entanto, a seleção com foco na produtividade de grãos, gerou ganhos indesejados para a massa de 100 grãos e o aspecto visual de grãos. Para massa de 100 grãos, a seleção das dez melhores linhagens gerou um ganho de -2,51% (Tabela 4.4), proporcionando um decréscimo de 0,6 g em relação à média original (22,8 g). A massa de 100 grãos preferida pelo mercado varia conforme o tipo comercial do grão (Pereira et al., 2012), de forma que, para o feijão-comum preto, é desejável que a massa seja superior a 22 g. Apesar do decréscimo observado, a massa de 100 grãos das linhagens selecionadas foi de 22,2 g (Tabela 4.4), o que ainda é considerado favorável para o caráter, principalmente quando se considera a média do genitor BRS Esplendor (20,0 g), cultivar de feijão-comum que apresenta grãos de pequeno tamanho (Costa et al., 2011). Já para o aspecto visual de grãos, houve um ganho de 1,75% na escala de notas de 1 a 3, com a seleção das dez melhores linhagens. Esse valor representa um aumento de 0,04 na escala de notas, que elevou a média de 1,04 para 1,08.

A média das dez melhores linhagens para produtividade de grãos foi de 2836 kg ha⁻¹, enquanto a média das dez piores linhagens foi de 1739 kg ha⁻¹, o que representa uma diferença de quase 40% (Tabela 4.4). Para massa de 100 grãos e aspecto visual de grãos, as diferenças entre as médias das melhores e piores linhagens foram pequenas, o que era esperado, conforme as estimativas de ganho com a seleção. Cabe ressaltar que a linhagem não nodulante NORH 54, utilizada como testemunha, apresentou a menor produtividade de grãos (1088 kg ha⁻¹) dentre todos os genótipos avaliados, o que pode ser um indicativo dos baixos teores de N mineral no solo em que foram realizadas as avaliações.

Tabela 4.4. Ganhos de seleção e médias das 10 melhores e das 10 piores linhagens e das testemunhas avaliadas em ambientes cuja principal fonte de nitrogênio foi a fixação biológica, para os caracteres produtividade de grãos (PROD – kg ha⁻¹), massa de 100 grãos (M100 – g) e aspecto visual de grãos (AVG – escala de notas de 1 a 3).

Genótipos	PROD	M100	AVG
10 melhores (10+)			
CNFP 21622	3312	23,3	1,50
CNFP 21630	2914	23,0	1,00
CNFP 21681	2905	21,6	1,00
CNFP 21629	2853	22,4	1,00
CNFP 21649	2806	22,3	1,00
CNFP 21619	2739	22,6	1,00
CNFP 21661	2726	22,1	1,00
CNFP 21662	2725	20,9	1,00
CNFP 21651	2723	23,3	1,00
CNFP 21632	2659	20,8	1,33
Média	2836	22,2	1,08
GS ₁₀₊ (%) ¹	20,36	-2,5	1,75
10 piores (10-)			
CNFP 21654	1881	20,6	1,17
CNFP 21637	1839	23,4	1,00
CNFP 21687	1831	23,9	1,33
CNFP 21677	1819	22,3	1,00
CNFP 21645	1815	21,4	1,00
CNFP 21670	1792	22,5	1,00
CNFP 21656	1758	23,1	1,50
CNFP 21667	1665	25,3	1,00
CNFP 21646	1649	21,9	1,00
CNFP 21682	1339	21,2	1,17
Média	1739	22,6	1,12
GS ₁₀₋ (%) ²	-18,74	-1,12	3,36
Testemunhas			
NORH 54	1088	21,6	3,00
BRS FP403	2554	25,4	1,00
CNFP 10793	2566	25,5	1,00
BRS Esplendor	2313	20,0	1,00
CNFP 7994	2331	20,0	1,00
Média ³	2441	22,7	1,00

¹Ganho com a seleção direta das dez melhores linhagens; ²Ganho com a seleção direta das dez piores linhagens; ³Valores não incluem testemunha NORH 54.

A média das melhores linhagens encontrada neste estudo foi superior às encontradas em trabalhos avaliando linhagens recombinantes (Farid et al., 2015; Farid et

al., 2017; Heilig et al., 2017b) e linhagens elite e cultivares comerciais sob FBN (Fonseca et al., 2013; Farid e Navabi, 2015; Pereira et al., 2015; Dias et al., 2020). Apesar de as cultivares e linhagens elite apresentarem alto potencial agronômico, o que permitiria seu uso direto em ambientes de FBN, esses genótipos foram desenvolvidos e selecionados em solos fertilizados com N mineral, o que evidencia que a fonte de N utilizada no processo de desenvolvimento das linhagens influencia na expressão da produtividade sob FBN (Pereira et al., 2015). As linhagens avaliadas neste estudo são oriundas de uma população avançada pelo método *bulk* em experimentos com repetições, utilizando a inoculação com rizóbio como única fonte N. Dessa forma, a seleção natural pode ter atuado no sentido de selecionar os genótipos mais produtivos e de maior capacidade competitiva sob FBN, contribuindo para as médias altas encontradas.

Em casa de vegetação, os coeficientes de variação foram adequados para o teor de clorofila (17%) e massa seca da raiz (14%) e muito elevados (> 50%) para os demais caracteres (Tabela 4.5). Valores altos de coeficientes de variação são comuns em avaliações de FBN (Pelegrin et al., 2009; Fonseca et al., 2013; Heilig et al., 2017a; Heilig et al., 2017b, Pacheco et al., 2020), principalmente, por ser um processo biológico, que apresenta alta influência ambiental. Além disso, alguns caracteres apresentaram médias baixas, o que influencia diretamente na magnitude do CV%. Por outro lado, as estimativas de acurácia seletiva (AS), estatística de medida de precisão que independe da média, variaram de altas (> 0,70) a muito altas (> 0,90), indicando boa capacidade de discriminação dos genótipos nos experimentos (Resende e Duarte, 2007).

Na análise conjunta, foram detectadas diferenças significativas entre as linhagens para todos os caracteres, com exceção da massa seca da raiz (Tabela 4.5), o que ressalta a presença de variabilidade genética entre as linhagens para caracteres relacionados a FBN. Variabilidade para estes caracteres já foi relatada em avaliações de genótipos de feijão-comum com diferentes tipos de grãos inoculados com rizóbio (Franco et al., 2001; Andraus et al., 2016; Farid e Navabi, 2015; Heilig et al., 2017a; Dias et al., 2020).

O efeito de ambientes foi significativo para todos os caracteres (Tabela 4.5), indicando que os fatores climáticos presentes nos dois experimentos afetaram a expressão destes. No entanto, houve interação das linhagens com os ambientes apenas para o número de nódulos, o que é um indicativo de que, para a maioria dos caracteres, não houve comportamento diferencial dos genótipos entre os experimentos. Isso aponta que

as linhagens mantiveram uma resposta consistente para caracteres relacionados à FBN independente das variações nos ambientes de cultivo.

Tabela 4.5. Quadrados médios das análises de variância conjuntas para caracteres relacionados à fixação biológica de nitrogênio (FBN), em dois ensaios de casa de vegetação, realizados para avaliação de vinte linhagens, sendo dez melhores e dez piores para produtividade de grãos e cinco testemunhas.

FV	GL	TC ¹	MSPA ²	MSRZ ³	NN ⁴	MSN ⁵	MEN ⁶
Genótipo (G)	24	43,9**	1,49**	0,12**	131015**	14682**	0,17**
Linhagens (L)	19	31,2**	1,18*	0,04	106931**	9119*	0,12**
Testemunhas (T)	4	92,1**	2,62**	0,52**	234127**	32951**	0,31**
L vs T	1	91,2*	2,84*	0,06	178013**	48355**	0,61**
Ambiente (A)	1	526,0**	80,79**	7,34**	1544218**	20603*	0,80**
G x A	24	16,4	0,63	0,06**	39327*	4006	0,06
L x A	19	16,8	0,77	0,03	43600*	5019	0,07
T x A	4	16,3	0,12	0,16**	18175	931	0,02
L vs T x A	1	8,6	0,00	0,18*	34325	155	0,11
Resíduo	144	13,6	0,65	0,03	23412	4899	0,05
CV (%)		17	53	14	66	66	68
AS		0,83	0,75	0,88	0,91	0,82	0,82

¹Teor de clorofila (Índice de Clorofila Falker – ICF); ²Massa seca da parte aérea (g planta⁻¹); ³Massa seca da raiz (g planta⁻¹); ⁴Número de nódulos (unidade planta⁻¹); ⁵Massa seca de nódulos (mg planta⁻¹); ⁶Massa específica de nódulo (mg nódulo⁻¹).

** , * : significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste F.

Houve diferença significativa entre os grupos de melhores e piores linhagens apenas para a massa específica de nódulos (Figura 4.1), o que aponta que o caráter pode auxiliar na seleção de genótipos superiores. Não é possível afirmar que os melhores e piores genótipos para produtividade de grãos também o são para os demais caracteres medidos em condições controladas, já que as médias dos dois grupos não diferiram estatisticamente. Como os caracteres relacionados a FBN são de difícil mensuração (Oladzad et al., 2020; Nagpal et al., 2023), o que inviabiliza sua incorporação na rotina dos programas de melhoramento, uma associação entre os dados de casa de vegetação e de campo, permitiria a indicação dos ensaios de casa de vegetação apenas para as fases finais dos programas de melhoramento para FBN, em que o volume de genótipos para avaliação é menor.

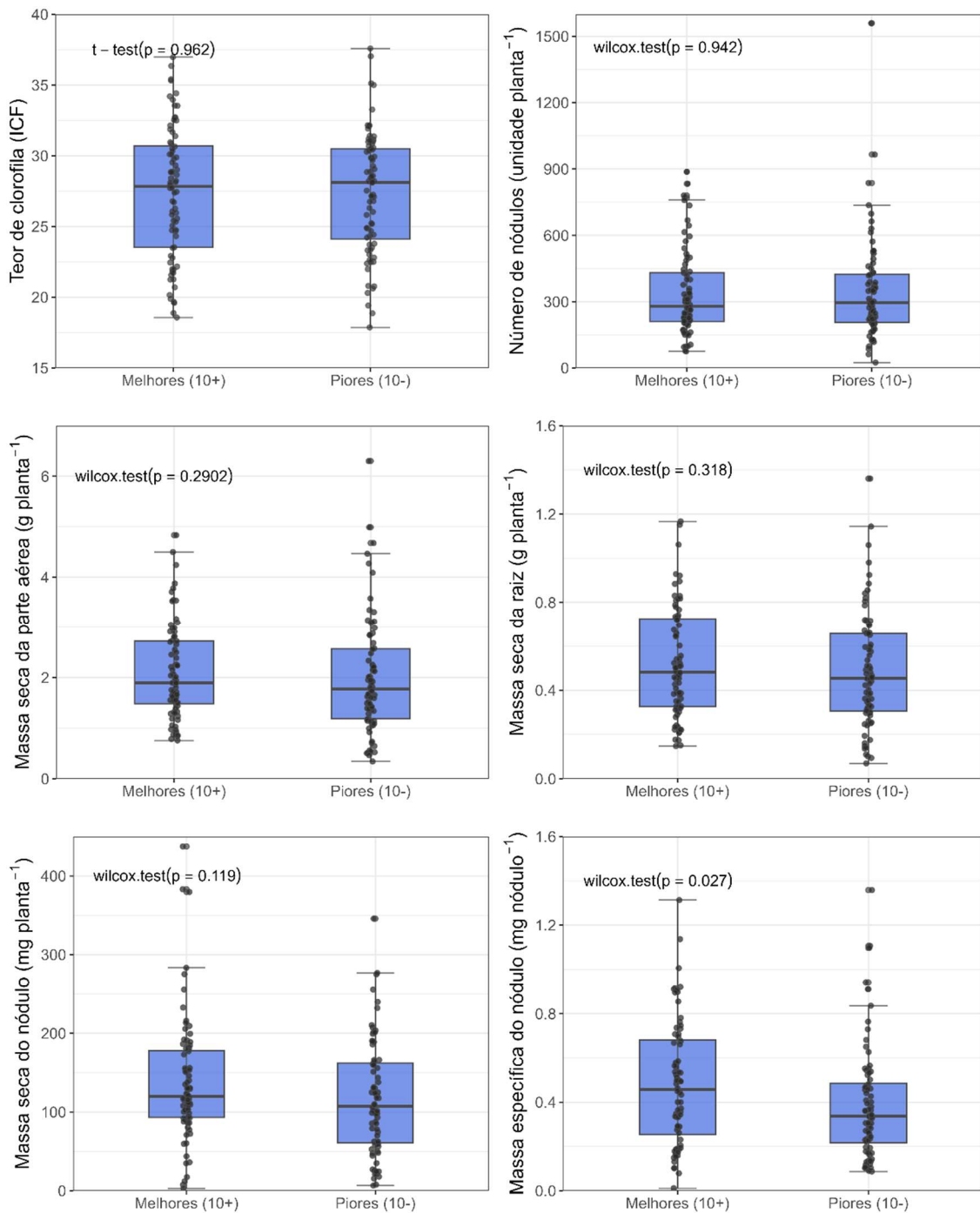


Figura 3.1. Comparação entre as médias dos grupos de dez melhores (10+) e dez piores (10-) linhagens para produtividade de grãos, considerando os caracteres teor de clorofila (Índice de Clorofila Falker - ICF), massa seca da parte aérea (g planta⁻¹), massa seca da raiz (g planta⁻¹), número de nódulos (unidade planta⁻¹), massa seca de nódulos (mg planta⁻¹) e massa específica de nódulo (mg nódulo⁻¹).

Assim, nas fases iniciais dos programas, os genótipos seriam avaliados por seu desempenho em campo, em condições de inoculação com rizóbio, para caracteres que fazem parte da rotina dos programas de melhoramento, como a produtividade de grãos,

e, nas fases mais avançadas, seriam realizados os ensaios de casa de vegetação, afim de avaliar caracteres relacionados à FBN. Os ensaios de casa de vegetação podem ser mais precisos e demandar menos tempo e espaço do que uma avaliação completa em campo, além de poderem ser conduzidos em qualquer época do ano (Rodiño et al., 2011; Heilig et al., 2017a; Heilig et al., 2017b).

Para o caráter teor de clorofila, as médias apresentaram variação de 20,3 a 33,4 ICF (Tabela 4.6). O N é um componente importante das moléculas de clorofila e desempenha papel fundamental para a manutenção das taxas fotossintéticas das plantas. A concentração de corantes de clorofila é um indicativo confiável da condição fisiológica das plantas e estudos têm relatado seu aumento significativo a partir da inoculação com rizóbios (Ramaekers et al., 2013; Farid et al., 2017; Reinprecht et al., 2020).

A massa seca da parte aérea e da raiz, quando os genótipos são cultivados sob condições livres de N mineral, podem ser caracteres úteis para seleção de plantas com melhor expressão da FBN (Heilig et al., 2017a). A média geral das linhagens para massa seca da parte aérea e da raiz foi de 2,11 g planta⁻¹ e 0,51 g planta⁻¹, respectivamente (Tabela 4.6). As médias encontradas para estes dois caracteres foram semelhantes ao que é relatado na literatura para experimentos de FBN em casa de vegetação (Farid et al., 2015; Heilig et al., 2017b; Kamfwa et al., 2019).

A produção de biomassa no feijão-comum está relacionada, dentre outros fatores, ao bom suprimento de N (Soratto et al., 2017). Dessa forma, os genótipos com as melhores médias para a massa seca da parte aérea e da raiz podem ser aqueles em que a FBN melhor conseguiu suprir as demandas da planta pelo nutriente. A testemunha não nodulante NORH 54, apesar de ter apresentado a menor média para massa seca da parte aérea (1,33 g planta⁻¹), obteve a maior média para a massa seca de raízes (0,94 g planta⁻¹) (Tabela 4.6). Isso acontece, pois, em plantas que não apresentam capacidade de nodulação, à medida que os teores de N no solo diminuem, ocorre uma maior alocação de fotoassimilados para as raízes, o que contribui para o seu intenso crescimento (Markham e Zekveld, 2007).

Tabela 4.6. Médias das 10 melhores (10+) e 10 piores (10-) linhagens para produtividade de grãos e 5 testemunhas, considerando os caracteres teor de clorofila (TC - Índice de Clorofila Falker - ICF), massa seca da parte aérea (MSPA - g planta⁻¹), massa seca da raiz (MSRZ - g planta⁻¹), número de nódulos (NN - unidade planta⁻¹), massa seca de nódulos (MSN - mg planta⁻¹) e massa específica de nódulo (MEN - mg nódulo⁻¹) medidos em dois ensaios de casa de vegetação.

Genótipos	TC	MSPA	MSRZ	NN	MSN	MEN
10 melhores (10+)						
CNFP 21619	27,2 b	1,91 ab	0,46 bc	351 bcd	122 a	0,44 ab
CNFP 21622	24,8 bc	2,43 ab	0,58 bc	570 ab	194 a	0,43 ab
CNFP 21629	29,5 b	1,93 ab	0,52 bc	288 cd	112 a	0,39 ab
CNFP 21630	27,9 b	2,29 ab	0,60 bc	228 cd	126 a	0,63 ab
CNFP 21632	26,1 bc	2,09 ab	0,55 bc	419 abcd	132 a	0,38 ab
CNFP 21649	26,2 bc	2,05 ab	0,49 bc	323 bcd	155 a	0,48 ab
CNFP 21651	33,4 a	2,64 ab	0,59 bc	265 cd	204 a	0,78 a
CNFP 21661	27,6 b	2,10 ab	0,47 bc	383 abcd	150 a	0,40 ab
CNFP 21662	24,5 bc	2,00 ab	0,47 bc	338 bcd	93 a	0,29 b
CNFP 21681	25,6 bc	1,97 ab	0,53 bc	287 cd	113 a	0,55 ab
Média	27,3	2,14	0,53	345	140	0,48
10 piores (10-)						
CNFP 21637	26,8 b	2,16 ab	0,55 bc	390 abcd	106 a	0,29 b
CNFP 21645	26,1 bc	1,35 b	0,46 bc	224 cd	69 a	0,36 ab
CNFP 21646	29,4 b	1,55 ab	0,45 bc	161 d	97 a	0,57 ab
CNFP 21654	25,8 bc	1,98 ab	0,42 bc	323 bcd	93 a	0,35 ab
CNFP 21656	27,1 b	2,36 ab	0,48 bc	400 abcd	159 a	0,46 ab
CNFP 21667	27,3 b	2,67 ab	0,50 bc	536 abc	149 a	0,26 b
CNFP 21670	27,6 b	1,84 ab	0,44 bc	269 cd	95 a	0,33 ab
CNFP 21677	27,0 b	1,74 ab	0,41 bc	254 cd	98 a	0,43 ab
CNFP 21682	28,8 b	3,00 a	0,71 b	397 abcd	166 a	0,43 ab
CNFP 21687	26,3 bc	2,19 ab	0,53 bc	665 a	155 a	0,34 ab
Média	27,2	2,08	0,50	362	119	0,38
Média Geral	27,3	2,11	0,51	354	129	0,43
Testemunhas						
BRS ESPLENDOR	25,1 bc	1,38 b	0,36 c	328 bcd	68 a	0,25 b
BRS FP403	29,6 b	2,58 ab	0,66 b	317 bcd	171 a	0,55 ab
CNFP 7994	26,1 bc	1,52 ab	0,30 c	256 cd	80 a	0,32 ab
BRS SUBLIME	26,8 b	2,19 ab	0,48 bc	468 abc	123 a	0,33 ab
NORH 54	20,3 c	1,33 b	0,94 a	0	0	0
Média ¹	27,2	2,10	0,50	371	125	0,40

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de médias de Scott Knott (5% de probabilidade). ¹Não estão inclusos os dados da testemunha NORH 54.

As médias do caráter número de nódulos apresentaram grande amplitude, variando de 161 a 665 nódulos planta⁻¹ (Tabela 4.6), ou seja, todas as linhagens, com exceção da testemunha não nodulante NORH 54, apresentaram elevada quantidade de

nódulos. As médias apresentadas neste estudo foram superiores às encontradas por Fonseca et al. (2013), Farid e Navabi (2015), e Dias et al. (2020), cujas maiores médias para o caráter foram de 392, 170 e 98 nódulos planta⁻¹, respectivamente, em avaliações de cultivares comerciais, e semelhantes às apresentadas por Knupp et al. (2017), que encontraram variação de 170 a 663 nódulos planta⁻¹, em avaliações de acessos de bancos de germoplasma.

O fato de as linhagens terem sido conduzidas em ambientes de FBN, é um fator que pode ter contribuído para a maior suscetibilidade das mesmas ao rizóbio, garantindo a formação nodular intensa (Andriolo et al., 1994). No entanto, cabe ressaltar que o feijão-comum é caracterizado por apresentar um elevado número de nódulos de tamanho pequeno, com baixa atividade fixadora (Isoi e Yoshida, 1991), ou seja, maior número de nódulos nem sempre implica em FBN mais efetiva para a cultura.

A massa seca e específica de nódulos são importantes caracteres que se relacionam com a FBN, uma vez que são indicativos do tamanho nodular. A média geral para a massa seca de nódulos foi de 129 mg planta⁻¹ (Tabela 4.6). Para a massa específica de nódulos, houve variação de 0,25 a 0,78 mg nódulo⁻¹. Este foi o único caráter que mostrou diferença estatística entre as médias dos grupos de melhores e piores linhagens (Figura 1), sendo que a média das dez melhores (0,48 mg nódulo⁻¹) foi superior à média das dez piores (0,38 mg nódulo⁻¹) linhagens. O genótipo que obteve a maior média para o caráter (CNFP 21651) pertence ao grupo das melhores linhagens e sua média para número de nódulos não esteve entre as melhores, o que aponta que este genótipo apresentou nódulos de maior tamanho.

A relação entre o tamanho do nódulo e a capacidade de fixação de N no feijão-comum ainda precisa ser claramente estabelecida (Knupp et al., 2017). Com este intuito, Matoso (2014) estudou o tamanho mínimo de nódulo que contribui efetivamente para o acúmulo de N na parte aérea e crescimento do feijão-comum. Apesar dos resultados terem sido inconclusivos quanto à capacidade simbiótica, os nódulos de tamanho médio (> 2mm) favoreceram o crescimento das plantas. No estudo de Rodiño et al. (2011), ficou evidente que genótipos com nódulos grandes (>2 mg nódulo⁻¹), apesar de apresentá-los em menor número, obtiveram uma biomassa nodular, radicular e da parte aérea muito maior em comparação com os genótipos de nódulos menores (< 1,5 mg nódulo⁻¹).

Como ressaltado anteriormente, as linhagens utilizadas nesse estudo são oriundas de uma população conduzida desde a geração F₂ com suprimento de N apenas via inoculação com rizóbio. A população foi formada pelo cruzamento entre genitores

com alelos favoráveis para produtividade de grãos e nodulação. As 76 linhagens estudadas, foram coletadas na geração F₅ e avaliadas por dois anos em campo, apenas para caracteres de rotina do programa de melhoramento da Embrapa Arroz e Feijão, devido à dificuldade de mensuração de caracteres relacionados à FBN para uma grande quantidade de genótipos, durante sucessivas gerações. A seleção dos genótipos contrastantes (melhores e piores) para avaliação em casa de vegetação, partiu do pressuposto de que as melhores e piores linhagens para produtividade de grãos, também seriam melhores e piores para os caracteres relacionados à FBN, uma vez que o N é o nutriente requerido em maiores quantidades pelo feijão-comum e mais produtivas poderiam ser aquelas linhagens de melhor desempenho simbiótico.

Como foi visto, a superioridade das melhores linhagens para os caracteres de FBN só ocorreu para a massa específica de nódulos (Figura 4.1). Os resultados encontrados apontam que o desempenho simbiótico das melhores e piores linhagens não diferiu estatisticamente para a maioria dos caracteres, o que evidencia que a condução da população segregante por *bulk*, em campo, por sucessivas gerações, em ambientes livres de N mineral e com inoculação com rizóbios foi eficiente e, mantiveram-se na população apenas aqueles genótipos que melhor se associaram as bactérias para obter o N necessário para seu desenvolvimento. Assim, as grandes diferenças observadas na produtividade de grãos das melhores e piores linhagens, pouco tem a ver com a FBN, mas sim com outros fatores, como a própria constituição genética dos genótipos, arquitetura da planta, ciclo, resistência a doenças, entre outros.

Quando dois caracteres se relacionam dentro de um mesmo ambiente, as correlações existentes entre eles são devidas, principalmente, aos fatores ambientais, e estas associações podem ser interpretadas como fenotípicas. Por outro lado, quando dois caracteres se relacionam independentemente do ambiente em que se encontram, as variações observadas ocorrem devido a fatores genéticos, ou seja, as correlações podem ser interpretadas como genéticas. As correlações fenotípicas são compostas por fatores genéticos e ambientais, enquanto as correlações genéticas representam a fração herdável e/ou previsível das associações entre os caracteres e estas, geralmente, são causadas por efeitos pleiotrópicos e/ou por genes ligados (Cruz et al., 2012; Ramalho et al., 2012).

Em relação aos caracteres mensurados em campo, o aspecto visual de grãos mostrou correlações genéticas significativas com o número (0,63) e massa seca (0,48) de nódulos (Figura 4.2), o que não faz muito sentido, pois indica que quanto pior a aparência do grão, maior é a biomassa e número de nódulos. Além de apresentar correlação genética

significativa com a massa seca da parte aérea, a massa de 100 grãos se correlacionou com a massa seca (0,54) e número de nódulos (0,45), o que indica que muitos genes envolvidos na determinação da massa de grãos podem estar ligados ou também atuar sobre a massa e número de nódulos. Em leguminosas, esses resultados são atribuídos ao maior conteúdo de reserva existente em sementes maiores, promovendo a emergência mais rápida e vigorosa das plântulas, que mais cedo se associam aos rizóbios, garantindo maior eficácia da nodulação (Corby et al., 2011; Costa et al., 2021).

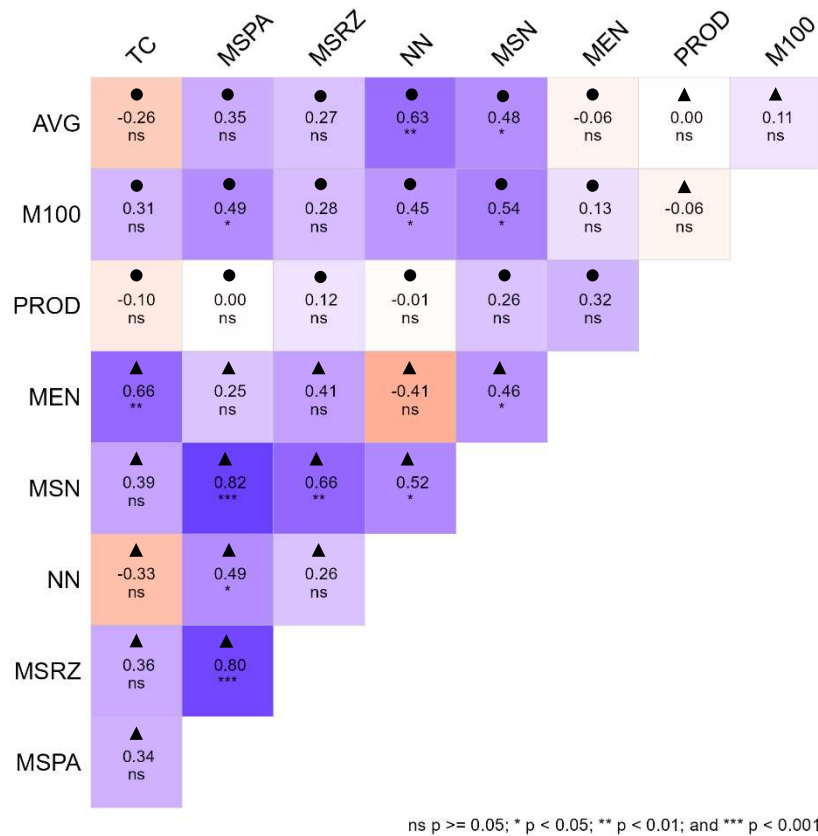


Figura 4.2. Coeficientes de correlação fenotípica (▲) entre os caracteres mensurados no mesmo experimento e correlação genética (●) entre os caracteres mensurados em experimentos distintos, em avaliações para fixação biológica de nitrogênio com vinte linhagens e duas testemunhas de feijão-comum tipo preto. Nos experimentos de casa de vegetação foram mensurados teor de clorofila (TC - Índice de Clorofila Falker - ICF), massa seca da parte aérea (MSPA - g planta⁻¹), massa seca da raiz (MSRZ - g planta⁻¹), número de nódulos (NN - unidade planta⁻¹), massa seca de nódulos (MSN - mg planta⁻¹) e massa específica de nódulo (MEN - mg nódulo⁻¹) e nos experimentos de campo, a produtividade de grãos (PROD - kg ha⁻¹), massa de 100 grãos (M100 - g) e aspecto visual de grãos (AVG - escala de notas de 1 a 3).

A produtividade de grãos não apresentou correlação significativa com os caracteres avaliados (Figura 4.2). A seleção de genótipos de alto rendimento associado a boa capacidade de FBN tem sido lenta no feijão-comum (Reinprecht et al., 2020). Enquanto alguns trabalhos relatam a existência de associação entre o rendimento de grãos e a FBN (Farid e Navabi, 2015; Heilig et al., 2017b; Barbosa et al., 2018), outros ressaltam que a seleção para ambos os caracteres deve ser realizada simultaneamente, devido as correlações baixas ou ausentes (Farid et al., 2017; Reinprecht et al., 2020). Esses resultados evidenciam a complexidade da interação entre a produtividade e FBN no contexto do feijão-comum, ressaltando a importância de mais estudos para garantir avanços consistentes para ambos os caracteres.

O teor de clorofila mostrou correlação fenotípica positiva e significativa com a massa específica de nódulos (0,66) (Figura 4.2). Esse resultado indica que o caráter pode estar associado ao tamanho nodular. Alguns estudos têm mostrado correlação do teor de clorofila com a porcentagem de N derivado da atmosfera (Farid et al., 2017; Reinprecht et al., 2020) e produtividade de grãos (Ramaekers et al., 2013) e têm recomendado sua utilização na seleção indireta para FBN. Porém, essa recomendação é feita somente quando não há outras fontes de N disponíveis, pois estas promovem aumentos diretos no caráter (Jiang et al., 2020; Reinprecht et al., 2020).

A massa seca de nódulos apresentou correlação fenotípica significativa com o número (0,52) e massa específica de nódulos (0,46), e massa seca da raiz (0,66), mostrando que pode haver incremento na biomassa nodular quando a quantidade e tamanho dos nódulos e desenvolvimento das raízes são maiores. A massa seca de nódulos é considerada um dos mais confiáveis caracteres relacionados à FBN, de acordo com trabalhos clássicos realizados para o feijão-comum e a soja (Döbereiner, 1966; Hungria e Bohrer, 2000), uma vez que o caráter apresenta boa associação com o N total acumulado nas plantas, o que não acontece com o número de nódulos.

A massa seca da parte aérea mostrou correlação fenotípica positiva e significativa com a massa seca da raiz (0,80) e nódulos (0,82), número de nódulos (0,49) e massa de 100 grãos (0,49), o que sugere que as plantas investem fotoassimilados em ambos os tecidos simultaneamente, sem favorecer a parte subterrânea ou parte aérea (Figura 4.2). Em estudo realizado por Heilig et al. (2017a), a massa seca da parte aérea também se correlacionou com importantes caracteres, como a porcentagem de N nos grãos e porcentagem de N derivado da atmosfera, o que levou os autores a recomendarem

o caráter na seleção indireta para FBN, porém, somente quando os genótipos são cultivados em condições livres de N.

Os dois primeiros componentes principais explicaram 67% (42% PC1 e 25% PC2) da variação total (Figura 4.3), o que indica que os componentes capturaram uma porcentagem significativa da variabilidade dos dados. O vetor da produtividade de grãos apresentou a mesma direção e ficou próximo dos vetores do teor de clorofila e massa específica de nódulo, que ficaram sobrepostos no gráfico. Isso indica que a produtividade tem uma relação consistente com os outros dois caracteres, em termos de como contribuem para a variabilidade global dos dados, e, certamente, essa relação é não linear, uma vez que não foi capturada pelas análises de correlação (Figura 4.2). Contudo, esses resultados devem ser interpretados com cautela, pois a produtividade de grãos mostrou a menor variação entre todos os caracteres avaliados, o que era esperado, devido a utilização das melhores e piores linhagens para o caráter nas análises.

Como mencionado anteriormente, a massa específica de nódulo é um importante caráter associado à FBN, sendo um indicativo do tamanho nodular, que, por sua vez, pode estar relacionado ao desenvolvimento das plantas e produtividade (Rodríguez et al., 2011; Matoso 2014). A associação encontrada entre a massa específica de nódulos, o teor de clorofila e a produtividade de grãos, possibilita a recomendação destes caracteres na seleção indireta para melhoramento de feijão-comum visando capacidade produtiva e FBN. Cabe ressaltar que a fenotipagem do teor de clorofila, com auxílio dos clorofilômetros, no início do florescimento da cultura, pode apresentar-se como alternativa mais rápida, fácil e de baixo custo (Ramaekers et al., 2013). Além disso, as avaliações do caráter são não destrutíveis para as plantas, pois não envolvem o sistema radicular, possibilitando a avaliação, na mesma planta, de caracteres de final de ciclo.

A análise de componentes principais também mostrou associação entre as massas secas da parte aérea, raízes e nódulos e massa de 100 grãos (Figura 4.3), reforçando os resultados encontrados na análise de correlação (Figura 4.2). Ambos os caracteres compõem a biomassa da planta, que está diretamente relacionada ao bom suprimento de N e ao teor total de N nos tecidos vegetais (Hungria e Bohrer, 2000). Alguns estudos têm recomendado uma avaliação simples da massa seca da parte aérea para seleção indireta da capacidade de FBN em genótipos de soja e feijão-comum. (Hungria e Bohrer, 2000; Nicolás et al., 2002; Heilig et al., 2017b). Portanto, os resultados encontrados reforçam a relevância do caráter como um indicador confiável da FBN, especialmente em solos com baixos teores de N.

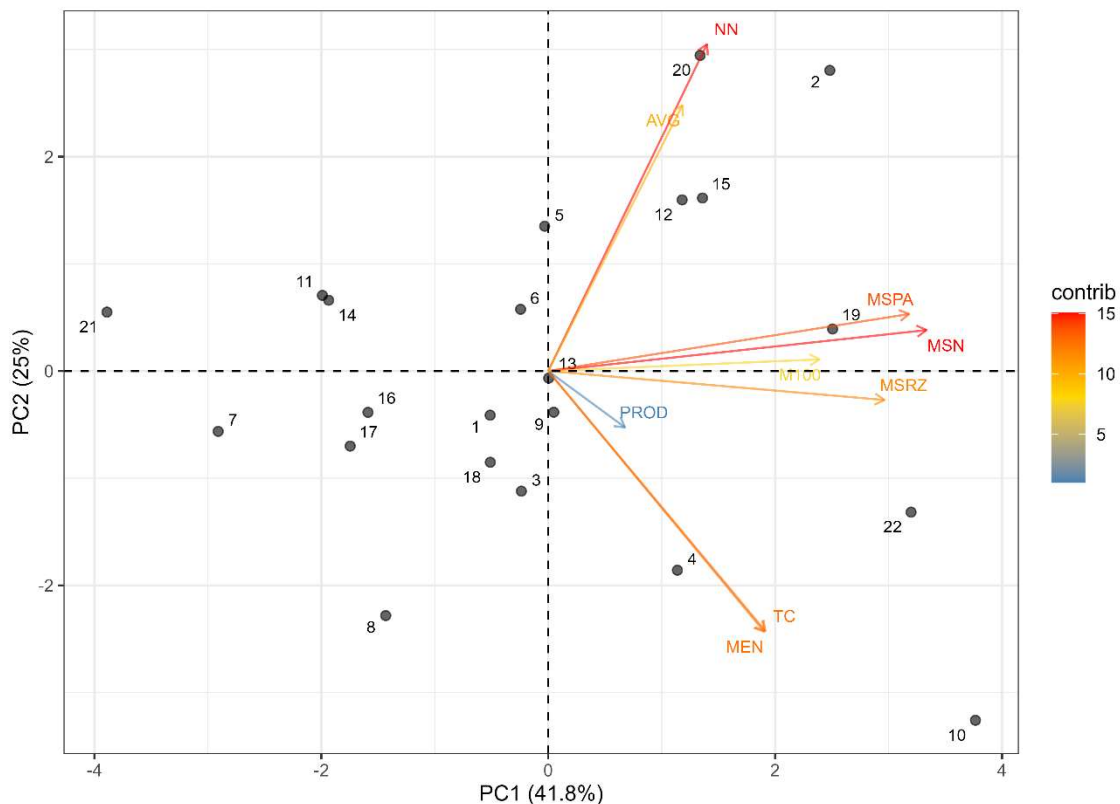


Figura 4.3. Análise de componentes principais de 22 genótipos de feijão-comum, sendo 10 melhores (1 a 10) e 10 piores (11 a 20) para produtividade de grãos e 2 testemunhas (21 e 22), para os caracteres avaliados em casa de vegetação teor de clorofila (TC - Índice de Clorofila Falker - ICF), massa seca da parte aérea (MSPA - g planta⁻¹), massa seca da raiz (MSRZ - g planta⁻¹), número de nódulos (NN - unidade planta⁻¹), massa seca de nódulos (MSN - mg planta⁻¹) e massa específica de nódulo (MEN - mg nódulo⁻¹) e os caracteres avaliados em campo produtividade de grãos (PROD - kg ha⁻¹), massa de 100 grãos (M100 - g) e aspecto visual de grãos (AVG - escala de notas de 1 a 3).

Os genótipos selecionados neste estudo serão encaminhados para os ensaios avançados, em que serão testados em um maior número de ambientes cuja principal fonte de N seja a FBN. Para isso, recomenda-se a seleção das dez melhores linhagens para produtividade de grãos avaliadas neste estudo, com exceção da CNFP 21632 e da CNFP 21662, que apresentaram baixas médias para a massa de 100 grãos (Tabela 4.4), não correspondendo com as expectativas de mercado atuais. As oito demais linhagens apresentaram boas médias para os caracteres agrônômicos e desempenho semelhante e satisfatório para os caracteres relacionados à FBN.

4.4 CONCLUSÃO

A condução dos genótipos por várias gerações em ambientes cuja principal fonte de nitrogênio foi a fixação biológica foi eficiente para detectar variabilidade genética e selecionar linhagens de bom desempenho simbiótico. Além disso, foi possível obter alto ganho genético para produtividade de grãos (20,36%).

Os caracteres teor de clorofila, massa seca da parte aérea e massa específica de nódulos podem ser indicados para seleção indireta de genótipos com melhor desempenho para FBN.

Oito linhagens (CNFP 21619, CNFP 2622, CNFP 21629, CNFP 21630, CNFP 21649, CNFP 21651, CNFP 21661 e CNFP 21681) são indicadas para comporem os ensaios avançados de FBN para feijão-comum tipo preto da Embrapa Arroz e Feijão.

4.5 REFERÊNCIAS

ANDRAUS, P. A.; CARDOSO, A. A.; FERREIRA, E. P. B. Differences in nodulation and grain yield on common bean cultivars with different growth cycles. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 47, n. 9, p. 1148-1161, 2016.

ANDRIOLO, J.; PEREIRA, P. A. A.; HENSON, R. A. Variabilidade entre linhas de formas silvestres de *Phaseolus vulgaris* quanto a características relacionadas com a fixação biológica de N₂. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, n. 6, p. 831-837, 1994.

BARBOSA, N.; PORTILLA, E.; BUENDIA, H. F.; RAATZ, B.; BEEBE, S.; RAO, I. Genotypic differences in symbiotic nitrogen fixation ability and seed yield of climbing bean. **Plant Soil**, v. 428, n. 1, p. 223-239, 2018.

BEAVER, J. S.; OSORNO, J. M. Achievements and limitation of contemporary common bean breeding using conventional and molecular approaches. **Euphytica**, v. 168, n. 1, p. 145-175, 2009.

CORBY, H. D. L.; SMITH, D. L.; SPRENT, J. I. Size, structure, and nitrogen content of seeds of Fabaceae in relation to nodulation. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 167, n. 3, p. 251-280, p. 2011.

COSTA, J. G. C.; MELO, L. C.; PEREIRA, H. S.; PELOSO, M. J.; FARIA, L. C.; DÍAZ, J. L. C.; WENDLAND, A.; RAVA, C. A. BRS Esplendor – Common bean cultivar with black grain, upright growth and disease resistance. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 11, n. 1, p. 276-279, 2011.

COSTA, C. N.; ANTUNES, J. E. L.; AQUINO, J. P. A.; SILVA, I. S. C.; FIGUEIREDO, M. V. B.; ARAÚJO, A. S. F. Seed size influences the promoting activity of rhizobia on plant growth, nodulation and N fixation in lima bean. **Ciência Rural**, v. 51, n. 3, p. e20200246, 2021.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4. ed., v. 1, Viçosa: Editora UFV, 2012. 514 p.

DIAS, P. A. S.; MELO, P. G. S.; MELO, L. C.; SOUZA, T. L. P. O.; FARIA, L. C.; FERREIRA, E. P. B.; PEREIRA, H. S. Production and disease resistance of elite lines previously selected using mineral nitrogen fertilization cultivated with natural versus artificial nitrogen supplementation. **Genetics and Molecular Research**, v. 19, n. 2, gmr18491, 2020.

DÖBEREINER, J. Evaluation of nitrogen fixation in legumes by the regression of total plant nitrogen with nodule weight. **Nature**, v. 210, n. 1, p. 850-852, 1966.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa, 2018. 356p.

FARIA, L. C.; MELO, P. G. S.; PEREIRA, H. S.; WENDLAND, A.; BORGES, S. F.; PEREIRA FILHO, I. A.; DIAZ, J. L. C.; CALGARO, M.; MELO, L. C. Genetic progress during 22 years of black bean improvement. **Euphytica**, v. 199, n. 1, p. 261-272, 2013.

FARID, M.; NAVABI, A. N₂ fixation ability of different dry bean genotypes. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 95, n. 1, p. 1243-1257, 2015.

FARID, M.; EARL, H. J.; PAULS, K. P.; NAVABI, A. Response to selections for improved nitrogen fixations in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Euphytica**, v. 213, n. 99, p. 2-13, 2017.

FONSECA, G. G.; OLIVEIRA, D. P.; SOARES, B. L.; FERREIRA, P. A. A.; TEIXEIRA, C. M.; MARTINS, F. A. D.; MOREIRA, F. M. S.; ANDRADE, M. J. B. Resposta de cultivares de feijoeiro-comum à inoculação das sementes com duas estirpes de rizóbio. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 6, p. 1778-1787, 2013.

FONSECA-LÓPEZ, D.; QUILA, N. J. V.; BALAGUERA-LÓPEZ, H. E. Techniques applied in agricultural research to quantify nitrogen fixation: a systematic review. **Ciencia y Tecnología Agropecuaria**, v. 21, n. 1, p. 32-50, 2020.

FRANCO, M. C.; CASSINI, S. T.; OLIVEIRA, V. R.; VIEIRA, C.; TSAI, S. M.; CRUZ, C. D. Combining ability for nodulation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes from Andean and Middle American gene pools. **Euphytica**, v. 118, n. 1, p. 265-270, 2001.

HEILIG, J. A.; BEAVER, J. S.; WRIGHT, E. M.; SONG, Q.; KELLY, J. D. QTL analysis of symbiotic nitrogen fixation in a black bean population. **Crop Science**, v. 57, n. 1, p. 118-129, 2017a.

HEILIG, J. A.; WRIGHT, E. M.; KELLY, J. D. Symbiotic nitrogen fixation of black and navy bean under organic production systems. **Organic Agriculture & Agroecology**, v. 109, n. 5, p. 2223-2230, 2017b.

HUNGRIA, M.; BOHRER, T. R. J. Variability of nodulation and dinitrogen fixation capacity among soybean cultivars. **Biology and Fertility Soils**, v. 31, n. 1, p. 45-52, 2000.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, v. 65, n. 2-3, p. 151-164, 2000.

ISOI, T.; YOSHIDA, S. Low nitrogen fixation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 37, n. 3, p. 559-563, 1991.

JIANG, Y.; MACLEAN, D. E.; PERRY, G. E.; MARSOLAIS, F.; HILL, B.; PAULS, K. P. Evaluation of beneficial and inhibitory effects of nitrate on nodulation and nitrogen fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Legume Science**, v. 2, n. 3, p. e45, 2020.

KAMFWA, K.; CICHY, K. A.; KELLY, J. D. Identification of quantitative trait loci for symbiotic nitrogen fixation in common bean. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 132, n. 1, p. 1375-1387, 2019.

KASSAMBARA, A.; MUNDT, F. **factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses**. R package version 1.0.7. 2022. Disponível em: <<http://www.sthda.com/english/rpkgs/factoextra>> Acesso em: 8 jan. de 2024.

KIPE-NOLT, J. A.; MONTEALEGRE, M. C. M. TOHME, J. Restriction of nodulation by the broad host range *Rhizobium tropici* strain CIAT899 in wild accessions of *Phaseolus vulgaris* L. **New Phytologist**, v. 120, n. 4, p. 489-494, 1992.

KNUPP, A. M.; FERREIRA, E. P. B.; ARAÚJO, A. P. Variability of nodulation traits in Andean and Mesoamerican common bean gene pools. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 4, p. 252-260, 2017.

LÊ, S.; JOSSE, J.; HUSSON, F. FactoMineR: an R package for multivariate analysis. **Journal of Statistical Software**, v.25, n. 1, p. 1-18, 2008.

LENTH, R. V. (2021). **emmeans: estimated marginal means, aka least-squares means**. R package version 1.8.9. 2021. Disponível em <<https://CRAN.Rproject.org/package=emmeans>> Acesso em: 8 jan. de 2024.

MARKHAM, J. H.; ZEKVELD, C. Nitrogen fixation makes biomass allocation to roots independent of soil nitrogen supply. **Canadian Journal of Botany**, v. 85, n. 9, p. 787-793, 2007.

MARTÍNEZ-ROMERO, E. Diversity of *Rhizobium-Phaseolus vulgaris* symbiosis: overview and perspectives. **Plant and Soil**, v. 252, n. 1, p. 11-23, 2003.

MATOSO, S. C. G. Eficiência de nódulos estratificados por tamanho no processo de fixação biológica de nitrogênio e crescimento do feijoeiro. **Agrotópica**, v. 26, n. 2, p. 103-110, 2014.

MOURA, F. T.; RIBEIRO, R. A.; HELENE, L. C. F.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. So many rhizobial partners, so little nitrogen fixed: The intriguing symbiotic promiscuity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Symbiosis**, v. 86, n. 2, p. 169-185, 2022.

- NAGPAL, S.; SIRARI, A.; SHARMA, P.; SINGH, S.; MANDAHAL, K. S.; SINGH, H.; SINGH, S. Marker trait association for biological nitrogen fixation traits in an interspecific cross of chickpea (*Cicer arietinum* x *Cicer reticulatum*). **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 29, n. 7, p. 1005-1018, 2023.
- NICOLÁS, M. F.; ARIAS, C. A. A.; HUNGRIA, M. Genetics of nodulation and nitrogen fixation in Brazilian soybean cultivars. **Biology and Fertility Soils**, v. 36, n. 1, p. 109-117, 2002.
- OLADZAD, A.; GONZÁLEZ, A.; MACCHIAVELLI, R.; DE JENSEN, C. E.; BEAVER, J.; PORCH, T.; MCCLEAN, P. Genetic factors associated with nodulation and nitrogen derived from atmosphere in a middle American common bean panel. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 576078, 2020.
- OLIVOTO, T.; LÚCIO, A. D. metan: An R package for multi-environment trial analysis. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 11, n. 6, p. 783-789, 2020.
- PACHECO, R. S.; BODDEY, R. M.; ALVES, B. J. R.; FERREIRA, E. P. B.; STRALIOTTO, R.; ARAÚJO, A. P. Differences in contribution of biological nitrogen fixation to yield performance of common bean cultivars as assessed by the ¹⁵N natural abundance technique. **Plant Soil**, v. 454, n. 1, p. 327-341, 2020.
- PELEGRIN, R.; MERCANTE, F. M.; OTSUBO, I. M. N.; OTSUBO, A. A. Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 1, p. 219-226, 2009.
- PEREIRA, H. S.; ALMEIDA, V. M.; MELO, L. C.; WENDLAND, A.; FARIA, L. C.; PELOSO, M. J. D.; MAGALDI, M. C. S. Influência do ambiente em cultivares de feijoeiro-comum em cerrado com baixa altitude. **Bragantia**, v. 71, n. 2, p. 165-172, 2012.
- PEREIRA, H. S.; MELO, L. C.; FARIA, L. C.; FERREIRA, E. P. B.; MERCANTE, F. M.; WENDLAND, A.; SOUZA, T. L. P. O. Common bean elite lines cultivated under nitrogen fertilization and inoculation with *Rhizobium tropici*. **Ciência Rural**, v. 45, n. 12, p. 2168-2173, 2015.
- PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. 15. ed. Piracicaba: FEALQ-USP, 2009. 451 p.
- R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Version 4.2.2. 2022. Disponível em: <<https://www.Rproject.org/>>
- RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SANTOS, J. B.; NUNES, J. A. R. **Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. 1. ed. Lavras: Editora UFLA, 2012. 522 p.
- RAMAEKERS, L.; GALEANO, C. H.; GARZÓN, N.; VANDERLEYDEN, J.; BLAIR, M. W. Identifying quantitative trait loci for symbiotic nitrogen fixation capacity and related traits in common bean. **Molecular Breeding**, v. 31, n. 1, p. 163-180, 2013.

- REINPRECHT, Y.; SCHARAM, L.; MARSOLAIS, F.; SMITH, T. H.; HILL, B.; PAULS, K. P. Effects of nitrogen application on nitrogen fixation in common bean production. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. 1172, p. 1-19, 2020.
- RESENDE, M. D. V.; DUARTE, J. B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, n. 3, p. 182-194, 2007.
- RODIÑO, A. P.; DE LA FUENTE, M.; DE RON, A. M.; LEMA, M. J.; DREVON, J. J.; SANTALLA, M. Variation for nodulation and plant yield of common bean genotypes and environmental effects on the genotype expression. **Plant Soil**, v. 346, n. 1, p. 349-361, 2011.
- SCHIPANSKI, M. E.; DRINKWATER, L. E.; RUSSELLE, M. P. Understanding the variability in soybean nitrogen fixation across agroecosystems. **Plant Soil**, v. 329, n. 1, p. 379-397, 2010.
- SORATTO, R. P.; CATUCHI, T. A.; SOUZA, E. F. C.; GARCIA, J. L. N. Plant density and nitrogen fertilization on common bean nutrition and yield. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 3, p. 670-678, 2017.
- SOUSA, M. A.; MESSIAS, M.; ASOBIA, P. C.; FLORES, R. A.; FERREIRA, E. P. B. Agroeconomic response of inoculated common bean as affected by nitrogen application along growth cycle. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 43, n. 6, p. 2531-2546, 2022.
- TORRES, M. H. R. M.; SOUZA, T. L. P. O.; FARIA, L. C.; MELO, L. C.; PEREIRA, H. S. Genetic parameters and selection of black bean lines for resistance to fusarium wilt and yield. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 57, n. 1, e02846, 2022.
- WILKER, J.; NAVABI, A.; RAJCAN, I.; MARSOLAIS, F.; HILL, B.; TORKAMANEH, D.; PAULS, P. Agronomic performance and nitrogen fixation of heirloom and conventional dry bean varieties under low-nitrogen field conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. 952, p. 1-21, 2019.
- WILKER, J.; HUMPHRIES, S.; ROSAS-SOTOMAYOR, J.; CERNA, M. G.; TORKAMANEH, D.; EDWARDS, M.; NAVABI, A.; PAULS, K. P. Genetic diversity, nitrogen fixation, and water use efficiency in a panel of Honduran common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces and modern genotypes. **Plants**, v. 9, n. 1238, p. 1-42, 2020.

APÊNDICES

Apêndice A. Médias das 76 linhagens e 5 testemunhas avaliadas em solos cuja principal fonte de nitrogênio foi a fixação biológica, em Santo Antônio de Goiás-GO, na safra de inverno de 2021 e 2022, para os caracteres produtividade de grãos (PROD – kg ha⁻¹), massa de 100 grãos (M100 – g) e aspecto visual de grãos (AVG – escala de notas de 1 a 3).

Genótipo	Inverno/2021			Inverno/2022			Conjunta		
	PROD	P100	AVG	PROD	P100	AVG	PROD	P100	AVG
CNFP 21614	2631	24,3	1,00	1965	26,8	1,00	2298	25,5	1,00
CNFP 21615	2253	20,5	1,00	1876	23,4	1,00	2064	22,0	1,00
CNFP 21616	2639	20,7	1,00	2412	23,1	1,00	2525	21,9	1,00
CNFP 21617	2611	22,3	1,00	2504	24,6	1,00	2558	23,4	1,00
CNFP 21618	2470	21,3	1,00	2047	24,0	1,33	2259	22,7	1,17
CNFP 21619	2735	21,3	1,00	2743	23,8	1,00	2739	22,6	1,00
CNFP 21620	2118	24,5	1,00	1845	26,3	1,00	1982	25,4	1,00
CNFP 21621	2669	21,5	1,00	1763	23,8	1,00	2216	22,7	1,00
CNFP 21622	3580	22,1	1,33	3044	24,5	1,67	3312	23,3	1,50
CNFP 21623	2536	20,4	1,00	1759	22,8	1,00	2148	21,6	1,00
CNFP 21624	2416	22,9	1,00	2002	25,8	1,00	2209	24,3	1,00
CNFP 21625	1834	21,6	1,00	2397	24,7	1,00	2116	23,2	1,00
CNFP 21626	2337	21,6	1,00	2033	25,2	1,00	2185	23,4	1,00
CNFP 21627	2479	20,8	1,00	2306	21,5	1,00	2393	21,2	1,00
CNFP 21628	2393	21,8	1,00	1849	23,4	1,00	2121	22,6	1,00
CNFP 21629	3324	21,2	1,00	2382	23,6	1,00	2853	22,4	1,00
CNFP 21630	3099	21,9	1,00	2728	24,1	1,00	2914	23,0	1,00
CNFP 21631	2170	21,1	1,00	1733	22,4	1,00	1951	21,8	1,00
CNFP 21632	2913	19,8	1,33	2405	21,7	1,33	2659	20,8	1,33
CNFP 21633	2066	21,4	1,00	1959	24,2	1,00	2013	22,8	1,00
CNFP 21634	2646	20,8	1,00	2510	24,0	1,00	2578	22,4	1,00
CNFP 21635	1959	22,2	1,00	1901	25,7	1,00	1930	24,0	1,00
CNFP 21636	2179	21,4	1,00	2072	24,8	1,00	2125	23,1	1,00
CNFP 21637	1471	21,9	1,00	2207	24,9	1,00	1839	23,4	1,00
CNFP 21638	2411	21,4	1,00	1866	22,9	1,00	2139	22,1	1,00
CNFP 21639	3198	20,8	1,00	2013	22,7	1,00	2606	21,7	1,00
CNFP 21640	3169	21,2	1,00	1985	23,2	1,00	2577	22,2	1,00
CNFP 21641	2510	20,7	1,33	1897	23,0	1,00	2203	21,9	1,17
CNFP 21642	2716	22,0	1,00	2176	25,1	1,00	2446	23,5	1,00
CNFP 21643	2799	21,1	1,00	2020	23,6	1,00	2410	22,4	1,00
CNFP 21644	2464	21,8	1,00	2491	24,1	1,00	2478	22,9	1,00
CNFP 21645	1921	20,6	1,00	1709	22,2	1,00	1815	21,4	1,00
CNFP 21646	1775	20,5	1,00	1523	23,3	1,00	1649	21,9	1,00
CNFP 21647	2162	21,2	1,00	2080	23,7	1,00	2121	22,4	1,00
CNFP 21648	1949	20,4	1,00	1927	23,2	1,00	1938	21,8	1,00

Apêndice B (Cont.). Médias das 76 linhagens e 5 testemunhas avaliadas em solos cuja principal fonte de nitrogênio foi a fixação biológica, em Santo Antônio de Goiás-GO, na safra de inverno de 2021 e 2022, para os caracteres produtividade de grãos (PROD – kg ha⁻¹), massa de 100 grãos (M100 – g) e aspecto visual de grãos (AVG – escala de notas de 1 a 3).

Genótipo	Inverno/2021			Inverno/2022			Conjunta		
	PROD	P100	AVG	PROD	P100	AVG	PROD	P100	AVG
CNFP 21649	3179	21,4	1,00	2434	23,1	1,00	2807	22,3	1,00
CNFP 21650	2216	23,8	1,00	2033	26,0	1,00	2124	24,9	1,00
CNFP 21651	2950	22,5	1,00	2496	24,1	1,00	2723	23,3	1,00
CNFP 21652	2341	22,7	1,00	1896	24,0	1,00	2119	23,3	1,00
CNFP 21653	2270	22,0	1,00	1860	23,4	1,00	2065	22,7	1,00
CNFP 21654	1843	19,7	1,33	1918	21,4	1,00	1881	20,6	1,17
CNFP 21655	2602	20,8	1,00	1652	22,5	1,33	2127	21,6	1,17
CNFP 21656	1822	21,7	1,67	1694	24,5	1,33	1758	23,1	1,50
CNFP 21657	2081	21,8	1,00	2202	23,6	1,00	2142	22,7	1,00
CNFP 21658	2500	20,5	1,00	2203	23,7	1,33	2351	22,1	1,17
CNFP 21659	2319	20,9	1,00	1932	22,4	1,00	2126	21,6	1,00
CNFP 21660	2600	23,0	1,00	2421	25,5	1,00	2511	24,2	1,00
CNFP 21661	3117	21,2	1,00	2335	22,9	1,00	2726	22,1	1,00
CNFP 21662	3010	19,9	1,00	2440	22,1	1,00	2725	21,0	1,00
CNFP 21663	2762	22,2	1,00	1985	24,0	1,00	2374	23,1	1,00
CNFP 21664	2613	21,7	1,00	2277	24,3	1,00	2445	23,0	1,00
CNFP 21665	2016	22,9	1,00	2011	25,7	1,00	2014	24,3	1,00
CNFP 21666	2222	22,1	1,00	2296	23,5	1,00	2259	22,8	1,00
CNFP 21667	1887	24,0	1,00	1444	26,6	1,00	1665	25,3	1,00
CNFP 21668	2657	20,3	1,00	2064	22,2	1,00	2361	21,2	1,00
CNFP 21669	2358	20,9	1,00	1935	24,7	1,00	2146	22,8	1,00
CNFP 21670	2023	21,0	1,00	1562	24,1	1,00	1793	22,5	1,00
CNFP 21671	2972	21,8	1,00	1922	24,1	1,00	2447	23,0	1,00
CNFP 21672	2729	22,6	1,00	1796	24,7	1,00	2263	23,6	1,00
CNFP 21673	3021	22,9	1,33	2054	24,1	1,00	2537	23,5	1,17
CNFP 21674	2572	21,3	1,00	2174	23,1	1,00	2373	22,2	1,00
CNFP 21675	2577	23,5	1,00	2277	26,0	1,00	2427	24,8	1,00
CNFP 21676	2580	22,3	1,33	2198	24,8	1,00	2389	23,5	1,17
CNFP 21677	1942	21,0	1,00	1697	23,6	1,00	1819	22,3	1,00
CNFP 21678	1877	22,3	1,00	2039	25,7	1,00	1958	24,0	1,00
CNFP 21679	2396	21,3	1,00	1501	23,1	1,33	1949	22,2	1,17
CNFP 21680	2536	23,0	1,33	1983	25,2	1,33	2260	24,1	1,33
CNFP 21681	3599	21,2	1,00	2211	22,0	1,00	2905	21,6	1,00
CNFP 21682	1547	20,0	1,00	1132	22,4	1,33	1339	21,2	1,17
CNFP 21683	2323	22,7	1,00	1750	24,6	1,00	2036	23,6	1,00
CNFP 21684	2489	21,5	1,00	2205	24,4	1,00	2347	22,9	1,00

Apêndice B (Cont.). Médias das 76 linhagens e 5 testemunhas avaliadas em solos cuja principal fonte de nitrogênio foi a fixação biológica, em Santo Antônio de Goiás-GO, na safra de inverno de 2021 e 2022, para os caracteres produtividade de grãos (PROD – kg ha⁻¹), massa de 100 grãos (M100 – g) e aspecto visual de grãos (AVG – escala de notas de 1 a 3).

Genótipo	Inverno/2021			Inverno/2022			Conjunta		
	PROD	P100	AVG	PROD	P100	AVG	PROD	P100	AVG
CNFP 21685	2642	24,8	1,00	2626	28,4	1,00	2634	26,6	1,00
CNFP 21686	2430	21,8	1,00	2019	24,0	1,00	2224	22,9	1,00
CNFP 21687	2713	22,3	1,00	949	25,5	1,67	1831	23,9	1,33
CNFP 21688	2766	21,8	1,00	2214	24,3	1,00	2490	23,0	1,00
CNFP 21689	2436	20,8	1,00	2152	23,2	1,00	2294	22,0	1,00
NORH 54	1118	21,1	3,00	1059	22,1	3,00	1088	21,6	3,00
BRS FP403	2432	24,3	1,00	2676	26,6	1,00	2554	25,4	1,00
CNFP 10793	2756	24,7	1,00	2377	26,4	1,00	2566	25,6	1,00
BRS									
Esplendor	2601	19,1	1,00	2025	21,0	1,00	2313	20,0	1,00
CNFP 7994	2482	18,9	1,00	2179	21,2	1,00	2331	20,0	1,00

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos estudos realizados comprovou-se que para o desenvolvimento de genótipos adaptados a condições de cultivo específicas, como a fixação biológica de nitrogênio (FBN), estes devem ser mantidos em ambientes representativos, para promover a seleção natural e otimizar sua interação simbiótica. Os ensaios conduzidos em vários ambientes, em que a FBN é a principal fonte de nitrogênio, permitem uma avaliação mais abrangente do desempenho dos genótipos em condições representativas de cultivo, o que facilita a identificação de cultivares promissoras e permite que os genótipos mais adaptados prosperem.

Em relação à variação genética das plantas, vários são os fatores que podem contribuir para o efetivo estabelecimento da simbiose com as bactérias. Fatores como a quantidade de substâncias liberadas, a facilidade com que o rizóbio se liga às raízes, a dissolução da parede celular, a formação dos nódulos e a produção de proteínas específicas podem distinguir as plantas mais eficientes na simbiose. É responsabilidade dos programas de melhoramento genético identificar os genótipos mais promissores. Para isso, recomenda-se que os programas sejam conduzidos, em todas as suas fases, em ambientes em que o rizóbio esteja presente, favorecendo a expressão da FBN.

A condução das populações segregantes por *bulk*, é eficiente para o incremento da FBN e pode ser sugerida para o feijão-comum. O avanço de gerações em ambientes sob sistema de FBN pelo método, promove a seleção natural e permite que apenas os genótipos mais adaptados prosperem e se mantenham na população. Outro método potencial para aumento da FBN no feijão-comum e que merece estudos é a seleção recorrente. Como o caráter é quantitativo e altamente influenciado pelo ambiente, a seleção recorrente permite a escolha contínua dos melhores genótipos ao longo de múltiplas gerações, favorecendo a adaptação a diferentes condições de cultivo e otimizando a eficiência na fixação de nitrogênio.

Com base nos resultados promissores apresentados no presente estudo, a expectativa de disponibilização de cultivares de feijão-comum preto direcionada para ambientes de FBN no mercado é elevada. Tal cultivar poderá oferecer aos agricultores uma opção eficaz e sustentável para cultivo em áreas em que a FBN é predominante, contribuindo para a segurança alimentar e a sustentabilidade ambiental.