

ANÁLISE *BILOT* NO DESEMPENHO DE FEIJÃO-VAGEM E NA  
INOCULAÇÃO DE *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5

**TÂMARA REBECCA ALBUQUERQUE DE OLIVEIRA**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ  
FEVEREIRO – 2019

ANÁLISE *BILOT* NO DESEMPENHO DE FEIJÃO-VAGEM E NA  
INOCULAÇÃO DE *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5

**TÂMARA REBECCA ALBUQUERQUE DE OLIVEIRA**

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologias Agropecuárias da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,  
como parte das exigências para obtenção do  
título de Doutora em Genética e Melhoramento  
de Plantas.”

Orientador: Prof. Geraldo de Amaral Gravina

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ  
FEVEREIRO – 2019

## FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

O48

Oliveira, Tamara Rebecca Albuquerque de.

ANÁLISE BILOT NO DESEMPENHO DE FEIJÃO-VAGEM E NA INOCULAÇÃO DE  
*Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 / Tamara Rebecca Albuquerque de Oliveira.  
- Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

55 f. : il.

Bibliografia: 40 - 55.

Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias  
Agropecuárias, 2019.

Orientador: Geraldo de Amaral Gravina.

1. Análise multivariada. 2. bactéria endofítica. 3. distância genética. 4. *Phaseolus  
vulgaris* L.. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 631.5233

ANÁLISE *BILOT* NO DESEMPENHO DE FEIJÃO-VAGEM E NA  
INOCULAÇÃO DE *GLUCONACETOBACTER DIAZOTROPHICUS*  
PAL5

TÂMARA REBECCA ALBUQUERQUE DE OLIVEIRA

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologias Agropecuárias da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,  
como parte das exigências para obtenção do  
título de Doutora em Genética e Melhoramento  
de Plantas.”

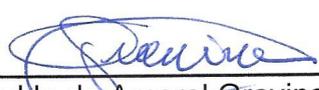
Aprovada em 18 de fevereiro de 2019

Comissão Examinadora:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. José Luiz Sandes de Carvalho Filho (D.Sc., Fitotecnia) - UFRPE

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Antônio Teixeira do Amaral Júnior (D.Sc., Genética e Melhoramento de  
Plantas) – UENF

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Marcelo Vivas (D. Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) –UENF

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Geraldo de Amaral Gravina (D. Sc., Fitotecnia) – UENF  
(Orientador)

*“A única segurança verdadeira consiste numa reserva  
de sabedoria, de experiência e de competência”  
(Henry Ford).*

## **DEDICATÓRIA**

À minha família,  
Dedico

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, primeiramente, a Deus por ter me dado saúde e discernimento para chegar ao fim de mais uma caminhada;

Aos meus pais, Jerônimo Augusto (em memória) e Angela Maria, por serem meu porto seguro, pelo amor incondicional e total apoio;

Às minhas irmãs e sobrinhas pelo carinho, atenção e inúmeras horas de descontração;

Aos meus queridos tios (as) e primos (as), por serem a melhor família e torcida organizada que eu poderia ter (só podiam ser “Albuquerque”);

Ao meu namorado, Gustavo Hugo, por estar sempre ao meu lado, por me amar e ser um exemplo a ser seguido;

Ao meu orientador Prof. Dr. Geraldo Amaral Gravina, pela paciência e compreensão de sempre, pelo total apoio e por contribuir significativamente para meu aprendizado e formação profissional;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da UENF, o meu muito obrigada por todo conhecimento transmitido;

Agradeço, em especial, ao Prof. Dr. Antônio Teixeira do Amaral Júnior por sempre estar disponível nos momentos em que precisei, por ser tão otimista, empático e prestativo;

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e ao Programa de Genética e Melhoramento de Plantas pela oportunidade de realizar o doutorado;

lembrando sempre que o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001;

Ao secretário Daniel, pela disponibilidade e eficiência de sempre;

À equipe do melhoramento de feijão-vagem, Derivaldo, Camila e Andréa, pela amizade e apoio durante todos esses anos;

A todos do Núcleo de Estudos de Genética e Melhoramento de Plantas – Ganho Genético, por entrarem na minha vida da melhor forma possível;

Aos velhos amigos, que mesmo na distância se fizeram presentes, e aqueles que apareceram durante esta jornada, todo o meu carinho por tornarem minha caminhada mais leve;

A todos aqueles que torceram e foram responsáveis pelo meu crescimento profissional.

Muito obrigada!

## SUMÁRIO

RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	XII
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
2.1 Objetivo Geral.....	4
2.2 Objetivos Específicos.....	4
3. CAPÍTULOS.....	5
3.1 ANÁLISE MULTIVARIADA COMO FERRAMENTA PARA SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE FEIJÃO-VAGEM.....	5
3.1.1 INTRODUÇÃO.....	5
3.1.2 REVISÃO.....	6
3.1.2.1 Origem, classificação botânica e características do feijão-vagem.....	6
3.1.2.2 Melhoramento do feijão-vagem .....	9
3.1.2.3 Análise multivariada.....	10
3.1.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1.3.1 Material genético e condução do experimento.....	12
3.1.3.2 Características avaliadas.....	13
3.1.3.3 Análises estatísticas.....	13
3.1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
3.1.4.1 Análise de componentes principais.....	14
3.1.4.2 Análise <i>Biplot</i> .....	17

3.1.4.3 Agrupamento UPGMA.....	19
3.1.5 CONCLUSÕES.....	22
3.2 DESEMPENHO DE LINHAGENS DE FEIJÃO-VAGEM À INOCULAÇÃO DE <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> PAL5.....	23
3.2.1 INTRODUÇÃO.....	23
3.2.2 REVISÃO.....	24
3.2.2.1 Fixação de nitrogênio.....	24
3.2.2.2 <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> .....	25
3.2.2.3 Análise GT <i>Biplot</i> .....	26
3.2.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.2.3.1 Material genético e condução do experimento.....	27
3.2.3.2 Cultivo bacteriano de <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> PAL5.....	28
3.2.3.3 Inoculação das sementes de feijão-vagem.....	29
3.2.3.4 Variáveis avaliadas.....	29
3.2.3.5 Análises estatísticas.....	30
3.2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
3.2.5 CONCLUSÕES.....	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** *Biplot* com a projeção das variáveis: comprimento de vagem (CV), número de sementes por vagem (NSV), peso médio de vagem (PMV), peso de cem sementes (P100S), produtividade de grão (PG), produtividade de vagem (PV), total de vagem (TV) e largura de vagem (LV), de 30 genótipos de feijão-vagem.....18
- Figura 2.** *Scree Plot* para selecionar o melhor número de grupos com base na soma de quadrados de 30 genótipos de feijão-vagem.....20
- Figura 3.** Dendrograma de 30 genótipos de feijão-vagem, baseada na distância de *Mahalanobis*.....20
- Figura 4.** GT *biplot* “*which-won-where*” de linhagens de feijão-vagem.....34
- Figura 5.** GT *biplot* “*means x stabilities*” indicando o rank de rendimento das linhagens de feijão-vagem de acordo com as características .....35
- Figura 6.** GT *biplot* comparando as linhagens de feijão-vagem avaliados para estimar o genótipo ideal.....37
- Figura 4.** GT *biplot* “Discriminante vs Representante” de feijão-vagem com a discriminação e representatividade das características avaliadas.....38

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Genótipos de feijão-vagem avaliados em Bom Jesus de Itabapoana.....	12
<b>Tabela 2.</b> Autovalores entre os caracteres agronômicos e os componentes principais (CP1 e CP2) dos genótipos de feijão.....	15
<b>Tabela 3.</b> Scores de um parental, duas cultivares comerciais e 27 genótipos de feijão-vagem e seus respectivos componentes principais (CP1, CP2 e CP3).....	16
<b>Tabela 4.</b> Descrição morfológica das progênies avaliadas.....	28
<b>Tabela 5.</b> Estimativas dos quadrados médios das variáveis rendimento de vagens (RV), largura das vagens (LV), número de vagens (NV), comprimento de vagens (CV), rendimento de grãos (RG), peso de 100 sementes (P100G), floração (Flor) e data de produção de vagens (DPV), analisada nas linhagens de feijão-vagem.....	32

## RESUMO

OLIVEIRA, Tâmara Rebecca Albuquerque; D.Sc.: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Fevereiro, 2019; Análise *biplot* no desempenho de feijão-vagem e na inoculação de *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5. Orientador: Geraldo de Amaral Gravina; Conselheiros: Marcelo Vivas e Rogério Figueiredo Daher.

O feijão-vagem é uma hortaliça muito apreciada no sudeste do Brasil e que demanda do uso de fertilizantes para apresentar melhoras no rendimento. O objetivo do presente estudo foi selecionar genótipos de feijão-vagem e avaliar o desempenho à inoculação de *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5. Para a seleção dos genótipos seguiu-se o delineamento experimental de blocos ao acaso, com 4 repetições e 30 genótipos. Foram realizadas análises de componentes principais, gráfico GT *biplot* e agrupamento de acordo com o método UPGMA para o peso médio de vagens, número de sementes por vagem, comprimento da vagens, largura da vagem, total de vagens, peso de cem sementes, produtividade de vagens e produtividade de grãos. As análises multivariadas sugeriram a seleção dos genótipos UENF 7-10-1, UENF 7-12-1 e UENF 7-20-1, que apresentaram boa produção de sementes, bem como de UENF 14-22-3 e UENF 14-23 -3, que mostrou aptidão para a produção de vagens. Os genótipos UENF 14-4-3, UENF 15-6-4, UENF 7-4-1, UENF 7-9-1, UENF 7-7-1 e UENF 7-5-1 não exibiram bom desempenho para as características avaliadas e podem ser descartadas. A linhagem UENF 1445 "PARENT 19" comprovou seu potencial para o rendimento de grãos, mostrando-se promissora para o desenvolvimento de genótipos

produtivos. O genótipo UENF 14-3-3 apresentou boa aptidão para variáveis correlacionadas negativamente, pois associou boas características de morfologia de vagem com rendimento de vagens e grãos. Para avaliação do desempenho à inoculação de *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5, foram avaliadas seis linhagens de feijão-vagem, em casa de vegetação, sob o delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições, em esquema fatorial 6x2x2x2. Realizou-se análise de variância e seleção de genótipos que apresentaram melhores desempenhos pelo método GT *biplot*, utilizando as variáveis florescimento, data da produção de vagens, comprimento de vagens, largura de vagens, total de vagens, produtividade de vagens, produtividade de grãos e peso de 100 grãos. A análise de variância mostrou desempenho diferenciado das linhagens, anos, bactéria, fertilizante e das interações duplas, triplas e quádruplas. Os gráficos *biplots* apresentaram eficiência na seleção das linhagens, representando 75,92% da variação total nos dois primeiros componentes principais. Todos os grupos formados pelo *biplot* exibiu uma linhagem inoculada com *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5, sem aplicação de adubo, como as de melhores desempenhos. A linhagem L7 se apresentou como genótipo ideal quando inoculada pela bactéria. A *G. diazotrophicus* PAL5, quando na presença de adubo NPK, perdeu sua eficiência.

**Palavras-chaves:** Análise multivariada, bactéria endofítica, distância genética, *Phaseolus vulgaris* L.

## ABSTRACT

OLIVEIRA, Tâmara Rebecca Albuquerque; D.Sc.: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; February, 2019; Biplot analysis on snap bean performance and inoculation of *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5. Advisor: Geraldo de Amaral Gravina; Counselors: Marcelo Vivas and Rogério Figueiredo Daher.

Snap bean is a popular and promising vegetable in Southeastern region of Brazil and requires fertilizer application to improve its yield. The aim of the current study is to select snap beans genotypes and to evaluate the performance under *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 application. The experiment was in a randomized block experimental design, with 4 repetitions and 30 genotypes. The principal component and *biplot* analyses, as well as clustering, were conducted according to the UPGMA method in order to investigate the mean pod weight, number of seeds per pod, pod length, pod width, total pods, weight of one hundred seeds, pod yield and grain yield. The multivariate analyses suggested the selection of genotypes UENF 7-10-1, UENF 7-12-1 and UENF 7-20-1, which presented good seed yield, as well as UENF 14-22-3 and UENF 14-23-3, which showed good potential to production. Genotypes located in Group II (UENF 14-4-3, UENF 15-6-4, UENF 7-4-1, UENF 7-9-1, UENF 7-7-1, UENF 7-5-1) did not have good performance in the measured traits and could be discarded. Lineage UENF 1445 “PARENT 19” proved its potential for seed yield, thus it is promising for the development of productive genotypes. Genotypes 14-3-3 presented good aptitude for negatively correlated variables, because it associated good trait with

morphology, seed yield, and pod and grain yield morphological traits. To evaluate the performance of *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5, six snap bean lineages provided by Darcy Ribeiro North Fluminense State University were evaluated in greenhouse based on a completely randomized block design, in 6x2x2x2 factorial arrangement, with four repetitions. Analysis of variance and lineage selection were performed. Based on results recorded for variables 'flowering', 'pod production date', 'pod length', 'pod width', 'pod total', 'pod yield', 'grain yield' and '100-grain weight, the best performances were achieved when the GT *biplot* method was applied. The analysis of variance showed different performances depending on the lineage, years, bacterium and fertilizer, as well as on lineages x bacterium, lineages x fertilizer, and bacterium x fertilizer interactions. *Biplot* graphs depicted efficient lineage selection, since it showed 75.92% of the total variation observed in the first two main components. The best performance recorded for all *biplot* groups concerned the inoculation with *G. diazotrophicus* PAL5, without fertilizer application. Lineage UENF 7-6-1 was the ideal performances depending on the lineage when it was inoculated with this bacterium, although *G. diazotrophicus* PAL5 lost its efficiency after NPK (fertilizer) application.

**Key words:** Multivariate analysis, Endophytic bacteria, genetic distance, *Phaseolus vulgaris* L.

## 1. INTRODUÇÃO

A vagem ou feijão-vagem pode ser caracterizado como uma hortaliça e como tal, seu cultivo possibilita gerar grande número de empregos sem a necessidade de alto investimento e de grandes extensões de terra, quando comparado a outras atividades agrícolas para se conseguir viabilidade econômica, sendo assim, apresenta grande importância socioeconômica.

Por ser rico em fibras e possuir fósforo, flúor, potássio, cálcio, ferro e vitaminas A, C e complexo B, sua exploração comercial tem grande importância mundial, tendo a China, Indonésia e Índia como principais produtores (FAO, 2014). O Brasil, sexto maior produtor, tem o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) como forte produto no mercado interno, onde o feijão-vagem é uma hortaliça com grande potencial para consumo e comercialização, por garantir a saúde da pele, estimular as funções intestinais e agir como antioxidante, combatendo os processos infecciosos.

Além disto, esta cultura proporciona melhorias nas condições sociais por diminuir o nível de desemprego nas áreas rurais e gerar oportunidade de diversificação para os pequenos produtores, uma vez que esta cultura é uma boa alternativa para ser usada no período de entressafra de olerícolas e como rotação de cultura com outras hortaliças.

A produção de feijão-vagem está distribuída entre quatro regiões, sendo que 75% do total produzido se concentram nas Regiões Sul e Sudeste e 25% são produzidos pelas Regiões Nordeste e Centro-Oeste (Melo e Vilela, 2007).

No Rio de Janeiro esta é uma cultura muito apreciada, sendo responsável por 21% do total produzido na Região Sudeste (IBGE, 2006). E mesmo sendo considerado um dos maiores centros nacionais de comercialização, a demanda ainda é maior que a oferta. Para solucionar este problema, o Estado do Rio de Janeiro importa o produto de Estados vizinhos, como Espírito Santo, Minas Gerais e São Paulo (CEASA, 2010).

No que diz respeito à Região Fluminense, apesar de ter apresentado um significativo aumento na produtividade, a participação desta ainda é pequena. Isso ocorre porque além das práticas fitotécnicas e nível tecnológico adotado, não se tem uma cultivar de feijão-vagem adaptada às diferentes condições edafoclimáticas da região Fluminense (Bezerra et al., 2008; Francelino et al., 2011). No entanto, segundo Francelino et al. (2011), as regiões Norte e Noroeste Fluminense apresentam climas favoráveis para a cultura do feijão-vagem, que se adapta bem a climas amenos.

Desta forma, o feijão-vagem se mostra uma cultura apropriada e de grande importância para esta região, sendo responsável pelo aumento da renda dos pequenos produtores ao ser utilizada, muitas vezes, como rotação de cultura com o tomate. Portanto, pesquisas voltadas para o melhoramento desta cultura, faz-se necessária para se gerar maiores lucros e incentivos para os produtores.

Programas de melhoramento voltados para o maior rendimento desta espécie são necessários para desenvolver e selecionar genótipos adaptados para recomendar aos agricultores desta região. Outrossim, os pequenos agricultores também precisam conhecer opções menos onerosas de manter esta cultura, aumentando assim os lucros.

O fertilizante é outra necessidade da planta que acarreta em maiores despesas para o agricultor. Sendo assim, as bactérias diazotróficas aparecem como alternativa para redução do consumo de adubos nitrogenados, uma vez que promove o crescimento vegetal e auxiliam no aumento da produtividade.

Muthukumarasamy et al. (2002) comprovaram a eficiência de *Gluconacetobacter diazotrophicus*, na cana-de-açúcar, ao relatarem que sua associação com outras bactérias permite um melhor desenvolvimento das plantas, podendo proporcionar uma produção equivalente à aplicação de 275 kg de N ha<sup>-1</sup>. Além disto, esta bactéria também teve sua eficácia comprovada em diferentes culturas (Procópio et al., 2013; Oliveira et al., 2016; Ahmad et al., 2017).

Dentre as metodologias utilizadas na seleção de genótipos que apresentam bons desempenhos para as características de interesse, os componentes principais (CPs) é uma técnica de análise multivariada que permite gerar gráficos *biplot* a partir dos dois primeiros componentes principais.

Os *biplots* são considerados gráficos eficientes e de fácil interpretação, que exibem os desempenhos dos genótipos e permitem analisar as inter-relações entre um grande número de características avaliadas.

Com base nestas informações, o objetivo deste trabalho foi utilizar a análise *biplot* para selecionar genótipos que apresentarem boas características agronômicas e avaliar o desempenho de feijão-vagem à inoculação da bactéria *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral:

Selecionar genótipos promissores para rendimento de vagens e grãos, para a Região Norte e Noroeste Fluminense e estudar o desempenho do feijão-vagem à inoculação de *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5.

### 2.2 Objetivos Específicos:

- Avaliar o potencial produtivo de 30 genótipos de feijão-vagem, nas condições ambientais do município de Bom Jesus do Itabapoana;
- Selecionar os genótipos que apresentarem características agronômicas de interesse;
- Estudar os níveis de correlações existentes entre as características estudadas;
- Avaliar se o uso da bactéria *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 melhora o desempenho das linhagens de feijão-vagem.

### **3. CAPÍTULOS**

#### **3.1 ANÁLISE MULTIVARIADA COMO FERRAMENTA PARA SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE FEIJÃO-VAGEM**

##### **3.1.1 INTRODUÇÃO**

O feijão-vagem é uma cultura muito apreciada e, segundo a FAO (2014), estima-se uma produção de aproximadamente 21 milhões de toneladas em todo o mundo. No Brasil, o feijão-vagem é muito consumido e comercializado, com produção distribuída entre quatro regiões, onde 25% do total são produzidos pelo Nordeste e Centro-Oeste e 75% da produção se concentram nas regiões Sudeste e Sul (Melo e Vilela, 2007).

Apesar de ocupar a sexta posição dos países mais produtores, no Brasil, pouca atenção tem sido dada ao melhoramento do feijão-vagem. As características de interesse e manutenção desta cultura tem sido feita, na maioria dos casos, pelos agricultores que reutilizam suas próprias sementes (Kurek et al., 2001). Ademais, a falta de informações é outro problema relacionado à essa cultura, dificultando no processo de obtenção de cultivares de feijão-vagem adaptada para determinada região.

As técnicas de análises multivariadas são importantes ferramentas na seleção de genótipos com base nas suas características principais. Dentre as técnicas multivariadas, a análise de componentes principais (CP) é uma técnica poderosa que reduz o conjunto de características agronômicas dos genótipos estudados, criando eixos ortogonais que são combinações lineares das variáveis originais, chamados componentes principais (Leite et al., 2016).

Na técnica *biplot*, gerada a partir da componente principal da matriz, diversas variáveis e os genótipos de estudo são considerados simultaneamente em uma análise precisa, robusta e integrada (ACP-*biplot*) (Maia et al., 2016).

Desta forma, a técnica multivariada se torna de grande importância para esta cultura, que apesar de tão apreciada é pouco estudada, uma vez que a análise gráfica identifica, de forma prática, os genótipos com melhor desempenho para as características avaliadas, permitindo uma seleção mais rigorosa e obtendo assim ganhos desejáveis.

Na literatura são escassos os trabalhos que envolvem correlação entre variáveis em feijão-vagem, principalmente envolvendo acentuado número de características a serem analisadas concomitantemente.

Diante do que foi exposto, o objetivo deste trabalho foi utilizar a análise multivariada como ferramenta para seleção de genótipos de feijão-vagem.

### 3.1.2 REVISÃO

#### 3.1.2.1 Origem, classificação botânica e características do feijão-vagem

Aproximadamente 55 espécies representam o gênero *Phaseolus*, mas apenas 5 delas são cultivadas: *Phaseolus vulgaris* L., *Phaseolus acutifolius* L., *Phaseolus coccineus* L., *Phaseolus lunatus* L. e *Phaseolus polyanthus* Greenman.

A *Phaseolus vulgaris* L. é considerada a espécie cultivada mais antiga e mais utilizada nos cinco continentes. Segundo Vavilov (1931), a diversificação primária do gênero *Phaseolus* ocorreu nas Américas. No entanto, as populações silvestres de feijão podiam ser encontradas do Norte do México ao Norte da Argentina, em diferentes altitudes, fazendo com que sua origem fosse amplamente

discutida, acarretando em diferentes hipóteses (Debouck 1988; Gepts e Debouck, 1991).

Após o descobrimento da América, os grãos do feijão foram largamente cultivados e consumidos na Europa Ocidental, somente no final do século XIX começaram a ser consumidos como vegetal pelos italianos (Blair et al., 2007).

Acredita-se que o feijão-vagem, pertencente a espécie botânica *Phaseolus vulgaris* L., tenha sido domesticado há mais de 7 mil anos em dois centros de origem: a Mesoamérica (México e América Central) e a Região Andina (Kaplan, 1981). Esta cultura originou-se nas Américas, onde era cultivada por indígenas pré-colombianos, foi levada para a Europa e Ásia após a chegada dos colonizadores europeus, espalhando-se rapidamente pelo resto do mundo (Athanázio, 1993; Rural News, 2015). Segundo Freitas et al. (2016), esta ampla área de ocorrência permitiu o surgimento de diversas raças locais.

O feijão-vagem é uma planta herbácea, anual, diploide ( $2n = 2x = 22$ ) e predominantemente autógama (Singh, 2001). Esta espécie é pertencente à família Fabacea, distribuídas nas subfamílias Caesalpinoideae, Faboideae e Mimosoideae, da subclasse Rosidae e ordem Fabales (Cronquist, 1968; Polhill, 1981).

As principais diferenças entre o feijão-vagem e os outros feijões é que o grão é colhido ainda verde, a ausência de fibrosidade no fruto permite a utilização na alimentação humana, de modo a se aproveitar o fruto por completo, o crescimento lento da semente e a colheita do fruto, feita cerca de 18 a 20 dias após a sua polinização (Tessarioli Neto e Groppo, 1992).

No Brasil, as cultivares de feijão-vagem são classificadas em três grupos principais, de acordo como o formato da seção circular: os tipos macarrão, macarrão rasteiro e manteiga (Filgueira, 2013). O tipo macarrão, de maior importância econômica, e o macarrão rasteiro apresentam vagens com seção circular no formato cilíndrico ou levemente ovalado, com comprimento variando de 15 a 18 cm e diâmetro médio em torno de 0,80 cm no ponto comercial. O tipo manteiga possui vagens de seção achatada, em geral com comprimento de 21 a 23 cm e largura, variando de 1,5 a 2,0 cm (Maluf, 1994).

O hábito de crescimento do feijão-vagem pode ser: hábito determinado, quando a porção terminal da haste se encerra em uma inflorescência; e hábito indeterminado, quando a extremidade da haste apresenta um meristema vegetativo

que proporciona a continuidade do crescimento da planta (Castellane e Carvalho, 1988; Vilhordo et al., 1996).

Cultivares com hábito de crescimento determinado apresentam florescimento em breve período de tempo, permitindo concentrar a produtividade, propiciando menores custos com mão-de-obra. Além disto, possibilita que seja efetuada uma única colheita, arrancando as plantas no campo e, posteriormente, separando as vagens (Filgueira, 2013).

No entanto, embora as cultivares de hábito de crescimento indeterminado exijam mais cuidados em relação à condução da cultura, no Brasil, essas cultivares são as preferidas por atingirem maiores rendimentos. Segundo Filgueira (2013), a produtividade destas atingem o dobro das cultivares de crescimento determinado. Essa diferença de rendimento compensa os gastos com mão-de-obra exigidos pelas cultivares com hábito de crescimento indeterminado.

Quanto à cor da vagem, a cor verde é apresentada pela maioria das cultivares para a comercialização e as mais populares para consumo "*in natura*" e industrialização. As demais cores apresentam mercado restrito (Castellane e Carvalho, 1988; Abreu et al., 2004).

O feijão-vagem é uma cultura de ampla adaptação a climas quentes e amenos (Filgueira, 2013), mas intolerante a fatores extremos do ambiente. A temperatura média ideal para o crescimento é de 18 a 30°C. Temperaturas mais elevadas (>35 °C) ocasionam significativa redução da produtividade e na taxa de crescimento, além de influenciar sobre o aborto de flores, vingamento e retenção final das vagens (Suzuki et al., 2001; Tsukaguchi et al., 2003).

Esta cultura também é intolerante ao frio e a geada. As baixas temperaturas (<15°C) podem impedir, reduzir ou atrasar a germinação das sementes e a emergência das plântulas, além de reduzir a altura e os ramos, resultando em baixa população, baixa produtividade e diminuição da produção de vagens por planta (Filgueira, 2013). Baixas temperaturas também são responsáveis pelo formato de gancho nas vagens.

Desta forma, em regiões tropicais que apresentam invernos amenos, o plantio pode ser feito durante todo o ano. Mas nas regiões que apresentam maiores altitudes e invernos mais rigorosos, o plantio deve ser evitado durante o inverno (Barbosa et al., 2001).

### 3.1.2.2 Melhoramento do feijão-vagem

O melhoramento do feijão-vagem ocorreu, entre outros países, na França e nos Países Baixos, onde cruzamentos feitos entre feijões cultivados na Europa e material genético procedente da América Central deram origem às primeiras cultivares apropriadas para colheita de vagens ainda imaturas (Oca, 1987). Na América do Norte, essas cultivares foram cruzadas com feijões da região, obtendo-se cultivares com maior potencial produtivo (Carvalho et al., 1999).

Durante décadas, melhoristas americanos, europeus e de instituições brasileiras vêm desenvolvendo trabalhos com feijão-vagem para características como: resistência a patógenos; morfologia e teor de fibra da vagem; hábito de crescimento; resistência ao acamamento em cultivares eretas; coloração de vagem e outras características. Entretanto, essa cultura ainda necessita de ações de pesquisa, principalmente para incrementar sua produção, qualidade das vagens e resistência a estresses bióticos e abióticos (Singh, 2001; Abreu et al., 2004).

Um programa de melhoramento, para obtenção de novos genótipos a serem recomendados, compreende as etapas de hibridação entre genitores contrastantes para os caracteres que se deseja melhorar, obtendo-se assim a introgressão de novos genes, avanço de gerações ( $F_2$  a  $F_6$ ), avaliações preliminares e ensaios de valor de cultivo e uso. Obtendo-se resultados positivos, faz-se o plantio em escala comercial e indica o genótipo como nova cultivar.

As novas cultivares de feijão-vagem têm sido liberadas por empresas privadas e muitas dessas cultivares são importadas, encarecendo o custo das sementes (Rodrigues, 1997). No Brasil, pouca atenção tem sido dada ao melhoramento do feijão-vagem. A manutenção e seleção de genótipos com características de interesse tem sido feita, na maioria dos casos, pelos próprios agricultores e os conhecimentos compartilhados podem, no mínimo, ajudar nos trabalhos de melhoramento.

Além de elevada produtividade e o tipo de planta ereto, as cultivares de feijão-de-vagem devem possuir outras características agronômicas desejáveis, incluindo, menor teor de fibra, por proporcionar um melhor manejo e uma melhoria na qualidade nutricional das vagens, e altura ideal de inserção das vagens inferiores (Souza, 2015). O acamamento e/ou a inserção baixa das vagens inferiores ocasionam o contato das mesmas com o solo, resultando no seu

apodrecimento ou favorecendo o surgimento de doenças, que depreciam a qualidade do produto (Costa e Rava, 2003).

Atualmente os programas de melhoramento estão mais atentos a satisfazer o mercado consumidor. Sendo assim, outras características a serem melhoradas nessa cultura trata-se da qualidade nutricional dos frutos. As pesquisas com esse intento visam o aumento do teor de vitaminas e sais minerais e a redução do teor de fibras (Sebastiá et al., 2001; Londero et al., 2006; Dalfollo Ribeiro, 2010).

Desta forma, é necessário que se façam estudos para selecionar genótipos com características desejáveis e assim obter novas opções de cultivares, que sejam mais produtivas e adaptadas a cada ambiente específico e que possuam valor de mercado uma vez que, não existe no Brasil um programa nacional de avaliação e recomendação de cultivares de feijão-vagem.

### **3.1.2.3 Análise multivariada**

Quando uma análise considera múltiplas variáveis, simultaneamente, é chamada de análise multivariada. Esta é muito utilizada nos processos de experimentação que envolvem a avaliação de várias características, pois fornece resultados mais detalhados, facilitando a discussão dos resultados, uma vez que os dados são interpretados considerando a correlação existente entre as variáveis.

Embora a técnica multivariada seja mais detalhada, muitas vezes a avaliação de um grande número de variáveis pode distorcer os resultados, afetando a precisão e dificultando a interpretação. Para reduzir esse problema, a análise multivariada dispõe de vários métodos e técnicas que ajudam na interpretação teórica de um conjunto de dados ( Moita Neto, 2004). A escolha do método a ser utilizado depende do objetivo da pesquisa.

Quando o interesse é estudar a correlação entre as características e a semelhança existente entre os genótipos, segundo estas variáveis, existem dois métodos a serem utilizados: análise de componentes principais e análise de agrupamento hierárquico.

A análise de componentes principais (ACP) é uma técnica que transforma um conjunto de variáveis originais em outro conjunto de variáveis não correlacionadas de mesma dimensão e arranjadas em ordem decrescente de

variância, denominada de componentes principais (Yin e Huang, 2010; Barshan et al., 2011; Prieto-Moreno et al., 2015).

Este método tem como objetivo eliminar as variáveis respostas que apresentarem poucas informações, destacar as relações existentes entre as variáveis e encontrar a combinação que explica a maior variância total dos dados (Dunteman, 1989; Guimarães et al., 2006; Yang et al., 2008). Desta forma, os componentes principais apresentam o mínimo de perda de informação, preservando ao máximo as informações originais.

Segundo Johnson e Wichern (1998) e Moroco (2003), essas combinações lineares independentes, possuem pesos estimados de forma que o primeiro componente principal (CP) explica a maior proporção da variância total das variáveis originais e o segundo componente principal é independente e mantém constante a variância total, explicando a maior proporção da variância não explicada pelo primeiro CP. Sendo assim, a importância do componente está relacionada com a porcentagem da variância total que ele é capaz de explicar (Muniz et al., 2014).

Já a análise de agrupamento consiste em transformar um conjunto heterogêneo em grupos homogêneos, de acordo com as características que os indivíduos possuem (Andrade et al., 2018). Em outras palavras, nesta metodologia os genótipos alocados em um determinado grupo devem ser similares e, preferencialmente, distintos dos genótipos dos outros grupos.

Entre outras medidas de dissimilaridade, a distância generalizada de Mahalanobis se destaca por levar em consideração as variâncias e covariâncias residuais existentes entre os caracteres avaliados (Cruz et al., 2014). Este agrupamento proporciona maior acurácia nas tomadas de decisões, pois possibilita a seleção dos genótipos de interesse de acordo com a variável que se deseja melhorar, além de facilitar a escolha de linhagens divergentes para obtenção de cruzamentos que maximizem a heterose (Cruz et al., 2014; Laude e Carena, 2015).

Diante do exposto, a análise de componentes principais e análise de agrupamento são metodologias multivariadas que possibilitam a seleção rigorosa de indivíduos superiores e o estudo da correlação entre as variáveis estudadas, de maneira fácil e eficiente. A eficiência da análise multivariada foi comprovada em diferentes estudos com a cultura de feijão-vagem (Oliveira et al., 2018b; Oliveira et al., 2019).

### 3.1.3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1.3.1 Material genético e condução do experimento

Inicialmente foi feito a caracterização e estudo da diversidade genética de 25 acessos do Banco de Germoplasma da UENF, de hábito de crescimento indeterminado. A partir de então foram realizados cruzamentos entre acessos divergentes e com características desejáveis, obtendo híbridos dialélicos, para posteriormente avançar as gerações e selecionar genótipos produtivos e de qualidade comercial para o Norte e Noroeste Fluminense.

Para avanço das gerações, foram avaliados 30 genótipos de feijão-vagem, sendo 27 genótipos provenientes dos cruzamentos realizados, um progenitor e duas cultivares comerciais, utilizadas como testemunhas (Tabela 1).

**Tabela 1.** Genótipos de feijão-vagem avaliados em Bom Jesus de Itabapoana

<b>Genótipos</b>	<b>Identificação</b>	<b>Genótipos</b>	<b>Identificação</b>
L1	Progenitor 19 (UENF 1445)	L16	UENF 9-3-2
L2	Feltrin	L18	UENF 9-24-2
L3	<i>Topseed blue line</i>	L18	UENF 9-27-2
L4	UENF 7-3-1	L20	UENF 14-3-3
L5	UENF 7-4-1	L21	UENF 14-4-3
L6	UENF 7-5-1	L22	UENF 14-6-3
L7	UENF 7-6-1	L23	UENF 14-11-3
L8	UENF 7-7-1	L24	UENF 14-16-3
L9	UENF 7-9-1	L25	UENF 14-22-3
L10	UENF 7-10-1	L31	UENF 14-23-3
L11	UENF 7-12-1	L32	UENF 15-6-4
L12	UENF 7-14-1	L33	UENF 15-7-4
L13	UENF 7-20-1	L34	UENF 15-8-4
L14	UENF 7-28-1	L35	UENF 15-23-4
L15	UENF 9-1-2	L36	UENF 15-25-4

O experimento foi conduzido no ano de 2015, no campo experimental do IFF - Instituto Federal Fluminense no município de Bom Jesus de Itabapoana, localizado no Noroeste do Estado do Rio de Janeiro (latitude 21° 08' 02" S, longitude 41° 40' 47" W, altitude de 88m), com clima do tipo tropical e temperatura média anual de 28°C.

O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados com quatro repetições. As parcelas foram compostas por 4 linhas de 5 m, com espaçamento entre linhas de 1,0 m e 0,5 m entre plantas. O plantio foi realizado semeando-se três sementes em cada cova, dez dias após o plantio foi realizado o desbaste, deixando uma planta por cova, totalizando 40 plantas por parcela. Quinze dias após a emergência, as plantas foram tutoradas com bambu e arame.

As avaliações foram realizadas com base nas oito plantas centrais da fileira, sendo as duas plantas das extremidades mantidas para a produção de sementes. As adubações seguiram as orientações dos resultados das análises de solo. Os tratamentos culturais e fitossanitários foram feitos de acordo com os recomendados para a cultura, segundo Filgueira (2013) e a irrigação foi feita por aspersão.

### **3.1.3.2 Características avaliadas**

Os dados foram coletados na maturidade fisiológica da cultura. As variáveis analisadas foram: peso médio de vagem (PMV) - média do peso total em gramas (g) de vagens/planta, aferido com balança de precisão; número de sementes por planta (NSV) - contagem de sementes por vagem; comprimento de vagem (CV) - aferição em centímetros (cm) de vagens secas, utilizando régua; largura de vagem (LV) - aferição em milímetros (mm) na posição central de vagens secas, utilizando paquímetro digital; total de vagens (TV) – contagem do total de vagem por parcela; peso de cem sementes (P100S) - pesagem de 100 sementes, de uma amostra escolhida aleatoriamente, em balança de precisão devidamente regulada; produtividade de vagem (PV) - quantificação do peso total em gramas (g) das vagens de cada planta obtido por meio de balança de precisão; produtividade de grãos (PG) - quantificação do peso total em gramas (g) dos grãos de cada planta após a debulha de vagens, por meio de balança de precisão.

### **3.1.3.3 Análises estatísticas**

A análise de componentes principais (CP) foi utilizada para estudar os dados coletados. Foram apresentados os autovalores de todos os componentes principais. Os autovetores foram usados para melhor diferenciar os genótipos para os componentes de produção avaliados. Os dois primeiros CPs (CP1, CP2) e o

CP3 apresentaram as maiores variabilidades nos parâmetros testados e foram utilizados para o agrupamento de genótipos.

O *biplot* foi gerado com base nos valores dos genótipos, baseando-se nos valores destes, utilizando o CP1 no eixo horizontal e o CP2 no eixo vertical. A contribuição efetiva dos genótipos nos três primeiros componentes foi utilizada para gerar a distância entre os genótipos, por meio da distância de Mahalanobis. A correlação de Person entre a distância e as matrizes cofenéticas foi utilizada para determinar a coesão do cluster.

As análises aplicadas ao componente principal, ao *biplot* e ao agrupamento UPGMA foram realizadas no *software* R.

### 3.1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1.4.1 Análise de componentes principais

De acordo com Silva e Sbrissia (2010), a análise de componentes principais (CP) melhora a interpretação de dados, pois possui o máximo de informações possíveis em um número menor de CPs.

As oito características foram representadas por três componentes principais, que explicaram 74,27% das variações totais dos dados (Tabela 2). Os descritores que apresentam maiores autovalores são aqueles de maior relevância para os respectivos componentes.

Assim, levando em consideração os valores dos componentes principais, foi possível observar que o peso médio de vagens no CP1 apresentou a maior contribuição para a discriminação do genótipo. As variáveis que se destacaram no CP2 foram o número de sementes por vagem, comprimento da vagem e total de vagem. Finalmente, o CP3 se destacou pelo peso de 100 sementes, produtividade de vagens e produtividade de grãos.

As características morfológicas da vagem e a produtividade de grãos foram agrupadas nos dois primeiros componentes principais. A maior importância no terceiro componente foi relacionada à produtividade de vagens e grãos. Moreira et al. (2009) relataram os mesmos resultados, além disso, eles constataram que

rendimento de vagens apresentou menor contribuição relativa, o que também foi observado no presente estudo.

**Tabela 2.** Autovalores entre os caracteres agronômicos e os componentes principais (CP1 e CP2) dos genótipos de feijão

Caracteres	Componentes Principais		
	CP1	CP2	CP3
PMV	3,55	-0,84	0,38
NSV	-4,44	1,39	0,01
CV	-4,67	1,19	1,28
LV	-0,95	-3,99	-3,01
TV	-3,34	0,80	-2,49
P100S	-4,22	-0,63	0,20
PV	-1,61	-3,90	2,78
PG	-4,82	-0,96	0,24
Var. (%)	47,45	63,50	74,27

Peso médio de vagem (PMV), número de sementes por vagem (NSV), comprimento de vagem (CV), largura de vagem (LV), total de vagem (TV), peso de cem sementes (P100S), produtividade de vagem (PV), produtividade de grãos (PG).

Cruz e Regazzi (2001) relataram que as características que não mudarem entre os genótipos estudados, bem como a correlação apresentada com outras características importantes, podem ser descartadas como critério de seleção.

Os scores foram registrados para facilitar a seleção dos melhores genótipos para as variáveis específicas (Tabela 3). Por conseguinte, os genótipos adaptados são aqueles que apresentam os valores mais elevados nos três CPs.

Os genótipos indicados foram, UENF 9-3-2, UENF 9-27-2, UENF 14-3-3, UENF 14-6-3, UENF 14-22-3, UENF 14-23-3, UENF 15-8-4 e UENF 15-25-4, na primeira coluna; UENF 7-3-1, UENF 7-6-1, UENF 7-14-1, UENF 7-28-1, UENF 9-3-2, UENF 9-24-2, UENF 14-3-3, UENF 14-11-3, UENF 14-16-3, UENF 15-7-4 e UENF 15-23-4, na segunda; e UENF 1445 “PROGITOR 19”, UENF 7-10-1, UENF 7-12-1, UENF 9-27-2, UENF 14-3-3, UENF 14-11-3 e UENF 14-23-3 na terceira coluna.

Os genótipos UENF 14-3-3 foi o mais estável para as características representadas pelos CPs, já que associa boas características morfológicas com rendimento de grãos e vagem. Os genótipos UENF 7-12-1 e UENF 14-23-3 e a cultivar *Top seed blue line* apresentaram as menores pontuações no primeiro, segundo e terceiro eixos, respectivamente.

Abreu et al. (2004) recomendaram usar o parental UENF 1445 no melhoramento do feijão-vagem porque este representa bons atributos agrônômicos, principalmente para o rendimento de vagens e grãos. Esses resultados corroboraram com os encontrados neste estudo, onde o parental UENF 1445 destacou-se pelos seguintes atributos: peso de 100 sementes e produtividade de vagens e grãos. No entanto, a boa qualidade desta linhagem não foi confirmada para o número de sementes por vagem, que apresentou a menor contribuição relativa para o segundo eixo, o qual apresenta esta característica.

**Tabela 3.** Scores de um parental, duas cultivares comerciais e 27 genótipos de feijão-vagem e seus respectivos componentes principais (CP1, CP2 e CP3)

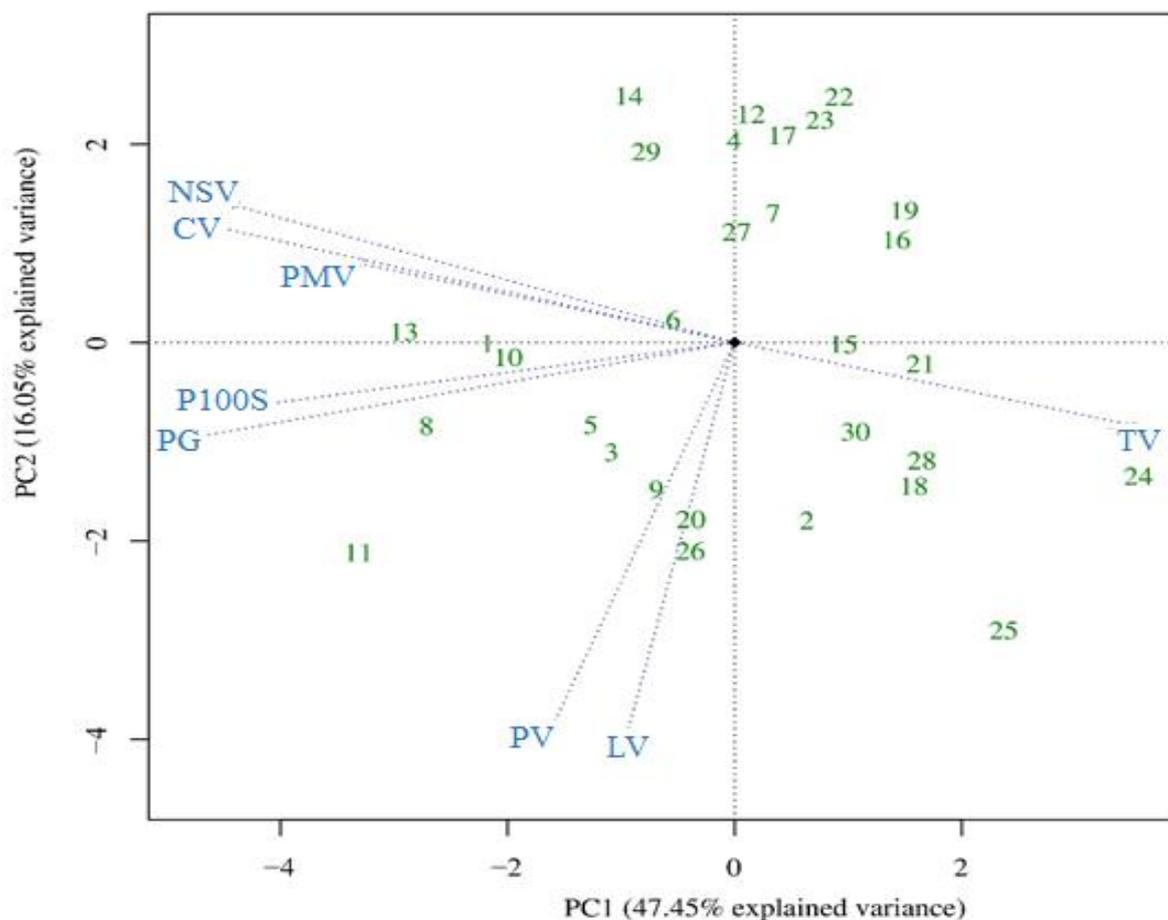
Genótipos	Identificação	Componentes Principais		
		CP1	CP2	CP3
L1	UENF 1445	-2,17	-0,01	2,96
L2	Feltrin	0,64	-1,78	1,08
L3	<i>Top seed blue line</i>	-1,07	-1,10	-2,97
L4	UENF 7-3-1	0,003	2,04	-0,38
L5	UENF 7-4-1	-1,26	-0,83	-1,23
L6	UENF 7-5-1	-0,53	0,23	-2,84
L7	UENF 7-6-1	0,34	1,30	-0,19
L8	UENF 7-7-1	-2,70	-0,84	-2,44
L9	UENF 7-9-1	-0,68	-1,48	-1,26
L10	UENF 7-10-1	-1,98	-0,14	3,48
L11	UENF 7-12-1	-3,29	-2,11	1,15
L12	UENF 7-14-1	0,15	2,30	0,63
L13	UENF 7-20-1	-2,89	0,11	1,06
L14	UENF 7-28-1	-0,91	2,48	-0,68
L15	UENF 9-1-2	0,97	-0,01	0,68
L16	UENF 9-3-2	1,43	1,03	-0,20
L18	UENF 9-24-2	0,43	2,09	-0,80
L18	UENF 9-27-2	1,59	-1,44	1,52
L20	UENF 14-3-3	1,42	1,00	1,43
L21	UENF 14-4-3	-0,37	-1,78	-0,61
L22	UENF 14-6-3	1,65	-0,21	0,17
L23	UENF 14-11-3	0,93	2,48	2,73
L24	UENF 14-16-3	0,76	2,24	-1,48
L25	UENF 14-22-3	3,57	-1,34	-1,59
L31	UENF 14-23-3	2,38	-2,89	1,90
L32	UENF 15-6-4	-0,37	-2,09	-0,41
L33	UENF 15-7-4	0,03	1,12	0,25
L34	UENF 15-8-4	1,63	-1,39	-0,38
L35	UENF 15-23-4	-0,76	1,92	-1,08
L36	UENF 15-25-4	1,07	-0,89	-0,50

### 3.1.4.2 Análise *Biplot*

A visualização gráfica, utilizando esta metodologia, possibilita observar a relação multivariada entre as variáveis, além de selecionar genótipos de acordo com a variável a qual se correlaciona. De acordo com Yang et al. (2009), os componentes principais que em conjunto explicam, no mínimo, 60% de toda a variação dos dados, podem ser eficientes na correlação multivariada de genótipos e estudos de seleção da representação gráfica.

Desta forma, os valores dos genótipos e variáveis são plotados no mesmo gráfico, mas em escalas diferentes, onde as variáveis que apresentam vetores com ângulos menores que  $90^\circ$  são positivamente correlacionados, enquanto que aqueles formados por ângulos com mais de  $90^\circ$  são negativamente correlacionados, e aqueles com ângulo de  $90^\circ$  não têm nenhuma correlação (Yan e Frégeau-Reid, 2008).

As variáveis relacionadas ao rendimento de grãos (produtividade de grãos, peso de 100 sementes e número de sementes por vagem) foram altamente correlacionadas com as características morfológicas (peso médio da vagem, comprimento da vagem, produtividade da vagem e largura da vagem) (Figura 1). Este resultado indica que, quanto maior o valor dos componentes morfológicos da vagem, maior o rendimento de grãos.



**Figura 1.** *Biplot* com a projeção das variáveis: Comprimento de vagem (CV), número de sementes por vagem (NSV), peso médio de vagem (PMV), peso de cem sementes (P100S), produtividade de grão (PG), produtividade de vagem (PV), total de vagem (TV) e largura de vagem (LV), de 30 genótipos de feijão-vagem.

Existiram variáveis redundantes entre os componentes morfológicos. A variável comprimento da vagem e o peso médio da vagem não foram exclusivos no experimento e o uso dessas variáveis pode ser opcional em programas de melhoramento de feijão-vagem, uma vez que a facilidade de avaliação é um critério de escolha.

Abreu et al. (2014) aplicaram a análise de agrupamento, com e sem peso total da vagem, e descobriu que esta variável pode ser descartada em estudos posteriores envolvendo feijão-vagem. Esses resultados divergem das avaliações de feijão *cowpea* (Oladejo et al., 2011) e feijão verde (Singh et al., 2014).

As variáveis relacionadas ao rendimento de grãos foram exclusivas e cada uma delas considera informações significativas e consideráveis sobre cultivares e genótipos no presente estudo. Resultados semelhantes foram encontrados por Paramesh et al. (2016), que relataram que esses resultados podem ser

interpretados devido às diferenças de ângulo e tamanho de vetores associados às variáveis no *biplot*.

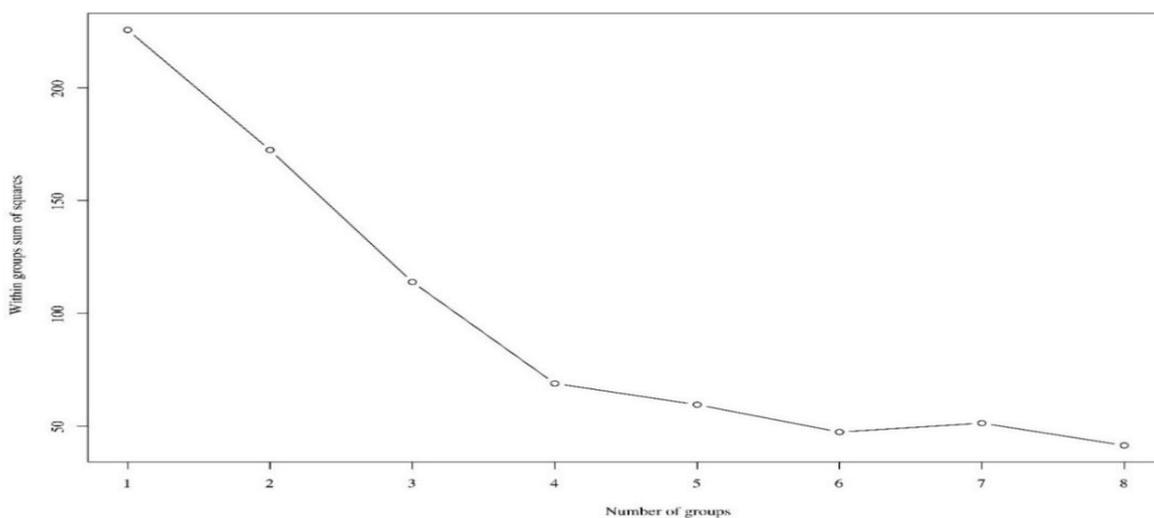
O total de vagens está correlacionado negativamente com o número de sementes por vagem, comprimento da vagem e peso médio da vagem. Este resultado evidencia que os genótipos que apresentam o menor número de vagens por planta podem ser mais produtivos e bons para a seleção do genótipo quando o rendimento da semente é o objetivo, uma vez que não há evidência de correlação linear com as demais características. Resultados semelhantes foram encontrados por Araújo et al. (2012). Além disso, os genótipos localizados no quadrante superior direito apresentaram boa aptidão para características correlacionadas negativamente.

Com base na inter-relação entre as variáveis dentro do *biplot*, é possível sugerir que as variáveis peso de 100 sementes, peso médio de vagem, largura da vagem e número de sementes por vagem podem ser levados em consideração em programas de melhoramento, quando o objetivo for desenvolver genótipos com o alto rendimento de grãos.

Estes resultados corroboram com os estudos que avaliaram a correlação entre variáveis agrônômicas em diferentes genótipos de feijão (Cabral et al., 2011; Santos et al., 2015; Gasim et al., 2015). Diferentes resultados foram encontrados em feijão comum e feijão-vagem através de análises de causa e efeito (Bertini et al., 2010; Ribeiro et al., 2014; Freitas et al., 2016).

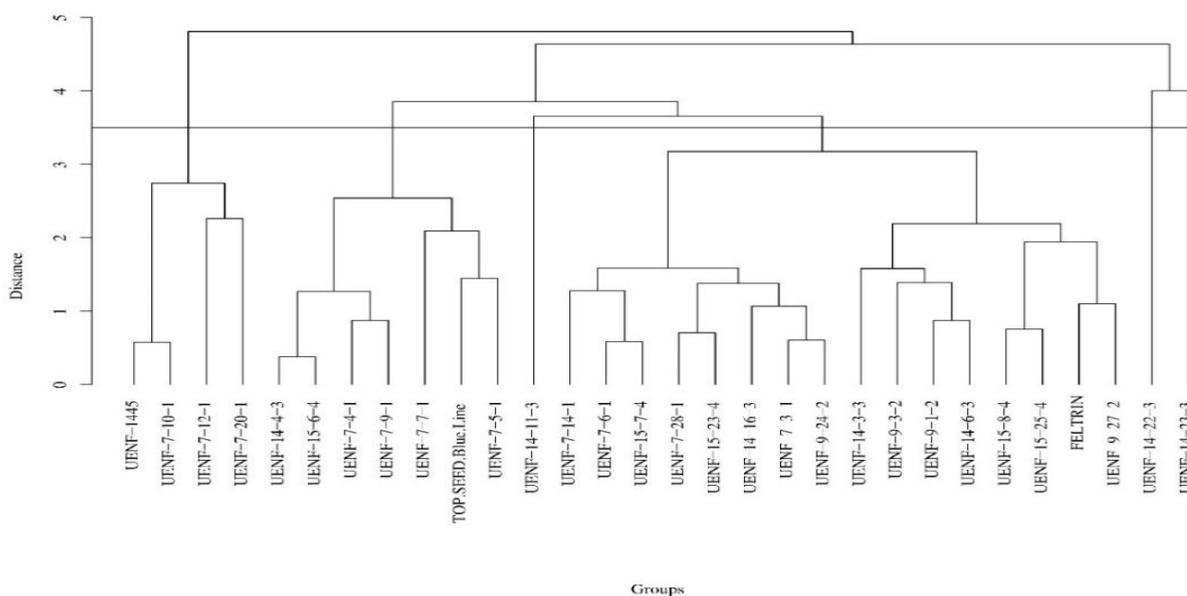
#### **3.1.4.3 Agrupamento UPGMA**

O gráfico *Scree Plot* representou a formação de seis grupos, para os 30 genótipos avaliados, minimizando a soma dos quadrados dentro do *cluster* (Figura 2).



**Figura 2.** Scree Plot para selecionar o melhor número de grupos com base na soma de quadrados de 30 genótipos de feijão-vagem.

A correlação cofenética apresentou 84% de magnitude, indicando assim consistência no agrupamento, que foi realizado de acordo com o método UPGMA (Figura 3).



**Figura 3.** Dendrograma de 30 genótipos de feijão-vagem, baseada na distância de Mahalanobis.

As porcentagens das distâncias entre os acessos foram representadas no eixo Y, enquanto os 28 genótipos e duas cultivares foram representadas no eixo X. O Grupo I incluiu a linhagem UENF 1445 "Progenitor 19" e os genótipos UENF 7-10-1, UENF 7-12-1 e UENF 7-20-1, enquanto o Grupo II compreendeu o controle

(*Topseed blue line*), UENF 14-4 -3, UENF 15-16-4, UENF 7-4-1, UENF 7-9-1, UENF 7-7-1 e UENF 7-5-1.

O Grupo III abrangeu apenas um genótipo UENF (UENF 14-11-3), o Grupo IV compreendeu 15 genótipos UENF (UENF 7-14-1, UENF 7-6-1, UENF 15-7-4, UENF 7-28-1, UENF 15-23-4, UENF 14-16-3, UENF 7-3-1, UENF 9-24-2, UENF 14-3-3, UENF 9-3-2, UENF 9-1-2, UENF 14-6-3, UENF 15-8-4, UENF 15-25-4, UENF 9-27-2) e o controle (Feltrin); Os grupos V e VI incluíram apenas um genótipo, UENF 14-22-3 e UENF 14-23-2, respectivamente.

Observou-se que os genótipos dos mesmos parentais não estavam localizados em grupos similares. O desacordo entre a diversidade genética e a origem dos genótipos de feijoeiro também foi relatado em estudos de Abreu et al. (2004).

As técnicas utilizadas no presente estudo permitem confirmar a variabilidade entre os 28 genótipos do banco de germoplasma da UENF, resultados semelhantes foram encontrados por Teixeira et al. (2004). No entanto, a inclusão de novos materiais pode aumentar a variabilidade existente e, assim, ampliar a chance de selecionar materiais com diferentes aptidões e rendimentos.

As análises de divergência genética podem ajudar os melhoristas a gerenciar os cruzamentos entre genótipos contrastantes. Conseqüentemente, é possível indicar cruzamentos entre genótipos promissores no Grupo I, que apresentaram alta aptidão para o componente de produção de semente, e genótipos do Grupos V (UENF 14-22-3) e VI (UENF 14-23-3), que apresentaram as maiores contribuições efetivas para o primeiro componente principal (peso médio de vagens), bem como formação de grupos isolados.

Os cruzamentos dialélicos apresentam-se como bons instrumentos para futuros estudos envolvendo esses germoplasmas. Informações como a capacidade combinatória, seja no sentido amplo ou específico, podem ajudar a formar populações de base e a escolher as linhagens para combinações híbridas específicas.

Assim, uma estrutura inicial sólida para o programa de melhoramento de feijão-vagem pode ser obtida, garantindo a obtenção de genótipos superiores que apresentarem bom desempenho na produção de vagens e grãos, com base em cruzamentos promissores.

Além disto, outras técnicas podem ser utilizadas em estudos adicionais envolvendo esse germoplasma, por exemplo, a aplicação de instrumentos moleculares. De acordo com Abreu et al. (2004), os instrumentos moleculares são relevantes para programas de melhoramento de feijão-vagem, principalmente quando o objetivo é comparar os resultados fenotípicos obtidos.

### **3.1.5 CONCLUSÕES**

As análises multivariadas sugerem a seleção dos genótipos UENF 7-10-1, UENF 7-12-1 e UENF 7-20-1, por apresentarem boa aptidão para o rendimento de vagens.

Os genótipos localizados no Grupo II (UENF 14-4-3, UENF 15-6-4, UENF 7-4-1, UENF 7-9-1, UENF 7-7-1, UENF 7-5-1) não apresentam bons desempenhos para as características avaliadas e podem ser descartados.

A linhagem UENF 1445 "Progenitor 19" confirmou o potencial de produção de grãos, uma vez que foi um progenitor promissor para o desenvolvimento de genótipos produtivos.

A linhagem UENF 14-3-3 apresenta boa aptidão para variáveis de correlação negativa, pois associa boas características de morfologia de vagem com rendimento de vagens e grãos.

## **3.2 DESEMPENHO DE LINHAGENS DE FEIJÃO-VAGEM À INOCULAÇÃO DE *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5**

### **3.2.1 INTRODUÇÃO**

O feijão-vagem, cultura bastante consumida no Brasil, é rico em fibras, potássio, cálcio, fósforo, flúor, ferro e vitaminas A, C e complexo B. No entanto, apesar de muito apreciada, poucos trabalhos voltados para o melhoramento desta vem sendo feitos. Como consequência, a falta de linhagens melhoradas e adaptadas às diferentes regiões acarreta na baixa produtividade, fazendo com que a demanda seja maior que a oferta.

A necessidade de aumentar a produtividade de feijão-vagem, quando não se tem linhagens adaptadas, exige o cultivo desta em uma extensão de terra maior, conseqüentemente, o consumo de fertilizantes aumentará. Embora o uso de adubo nitrogenado acarrete em aumento do rendimento, o uso excessivo deste causa deteriorização das áreas agrícolas, além de aumentar as despesas para a condução da lavoura (Glick, 2012; Costa et al., 2017).

As bactérias promotoras de crescimento vegetal aparecem como uma alternativa de sustentabilidade agrícola, reduzindo os custos e danos causados pelo uso de fertilizantes e auxiliando nos incrementos da produtividade por mecanismos diretos e indiretos. As bactérias diazotróficas em associação com algumas plantas contribuem na nutrição nitrogenada destas, por meio da colonização do interior dos tecidos vegetais via sementes, propagação vegetativa,

partes mortas da planta ou insetos, promovendo o crescimento vegetal (Baldani et al., 1997; Mirza et al., 2001).

Entre outras, a *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 é uma bactéria diazotrófica que se destaca pela capacidade de promover crescimento vegetal. Esta bactéria fixa o nitrogênio biologicamente, produz reguladores vegetais, como a auxinas, giberelinas e citocininas e auxilia na ação contra patógenos (Arencibia et al., 2006; Glick, 2012).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar, como primeiro relato, o desempenho de linhagens de feijão-vagem à inoculação de *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5.

### 3.2.2 REVISÃO

#### 3.2.2.1 Fixação de nitrogênio

O nitrogênio está entre os nutrientes de maior importância para se obter alto potencial produtivo. Apesar de ser o elemento mais encontrado no ar atmosférico e estar presente em várias estruturas celulares, o N<sub>2</sub> não é diretamente metabolizado pelas plantas. Como consequência, o uso de adubo nitrogenado acaba sendo imprescindível às culturas agrícolas, acarretando no aumento dos custos com a produção, uma vez que essa prática representa um dos processos mais caros da agricultura (Cunha et al., 2015).

Ademais, os fertilizantes nitrogenados são os mais poluentes, podendo ser responsáveis por impactos ambientais negativos, como contaminação da água e do solo por metais pesados (Trannin et al., 2001; Rosolem et al., 2003).

Uma alternativa para reduzir os danos causados pela aplicação excessiva de fertilizantes nitrogenados é o uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV). Estas bactérias estão entre os microrganismos capazes de melhorar o desempenho das plantas e aumentar a produtividade das culturas (Silveira, 2008; Glick, 2012; Dos Santos et al., 2014).

As BPCV podem apresentar mecanismos diretos (fixação biológica de nitrogênio, produção de fitormônios e solubilização de fosfato inorgânico) e indiretos

(proteção contra estresses ambientais e controle biológico) na promoção do crescimento vegetal (Glick, 2012; Correa Filho et al., 2017).

Entre esses mecanismos, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) é considerada o principal processo para fixação de nitrogênio pelas plantas, com contribuição de aproximadamente 60 milhões de toneladas de nitrogênio (N) na agricultura, reduzindo os custos de produção, além de minimizar os impactos ambientais (Vitousek et al., 2013; Embrapa, 2018).

Para ser utilizado biologicamente, o nitrogênio atmosférico ( $N_2$ ) precisa ser convertido em amônia ( $NH_3$ ) e nitrato ( $NO_3^-$ ), de forma a poder ser absorvido pelas plantas (Pereira et al., 2018). Essa conversão é um processo natural, realizado por bactérias fixadoras de nitrogênio, que mantêm uma relação de simbiose mútua com a planta. Se a relação entre a bactéria e a planta for eficaz, o N fixado supre as necessidades da cultura, substituindo a adubação convencional e prescindindo o uso de fertilizantes nitrogenados.

Entre os organismos capazes de realizar a fixação de nitrogênio, têm-se os rizóbios, bactérias gram-negativas, endossimbiontes que vivem nas células das raízes de leguminosas, formando nódulos radiculares. Existem oito gêneros de bactérias nodulíferas fixadoras de nitrogênio: *Allorhizobium*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Bradhyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Cupriavidus* e *Burkholderia* (Moreira et al., 2010; Dwivedi et al., 2015). Babalola (2010) destaca as espécies *Azoarcus* ssp., *Herbaspirillum seropedicae* e *Gluconacetobacter diazotrophicus*, como as bactérias endofíticas que também são capazes de realizar a FBN.

### **3.2.2.2 *Gluconacetobacter diazotrophicus***

A *Gluconacetobacter diazotrophicus*, descrita em 1988, foi nomeada inicialmente como *Sacharobacter nitrocaptans*, em seguida, como *Acetobacter Diazotrophicus* (Cavalcante e Dobereiner, 1988; Gillis et al., 1989). Após análises filogenéticas de rDNA 16S, foi reclassificada como pertencente ao membro do gênero *Gluconacetobacter* e renomeada como *Gluconacetobacter diazotrophicus*.

A *G. diazotrophicus* é uma bactéria diazotrófica, endofítica e aeróbica, inicialmente isolada de raízes e colmo da cana-de-açúcar (Cavalcante e Dobereiner, 1988). Esta bactéria pertence ao filo Proteobacteria, classe

Alphaproteobacteria, ordem Rhodospirillales, família Acetobacteraceae e gênero *Gluconacetobacter* (Cavalcante e Dobereiner, 1988; Kersters et al., 2006).

A principal característica da *G. diazotrophicus* é a promoção de crescimento vegetal, em decorrência da capacidade de fixar o nitrogênio biologicamente, apresentar biocontrole de fitopatógeno, produzir auxina, giberelina e sideróforos, entre outros fatores (Saravanan et al., 2007). Segundo Meneses et al. (2011), para que a fixação de nitrogênio decorra, é necessário que exista uma relação específica entre planta e bactéria, de tal forma que, o microrganismo seja capaz de invadir e proliferar nos tecidos da planta hospedeira, criando vias de infecção e sítios de colonização.

Atualmente, sabe-se que a *G. diazotrophicus* possui poucos hospedeiros, sendo encontrada em associação com plantas que apresentam alto teor de açúcar (Baldani e Baldani, 2005). Ainda assim, também se mostra eficiente na colonização de algumas plantas não hospedeiras, como trigo (Luna et al., 2010), *Arabidopsis* (Cocking et al., 2006), milho (Montañez et al., 2009) e canola (Germida e Freitas, 1998).

Não se têm na literatura, trabalhos sobre a inoculação de *G. Diazotrophicus* em linhagens de feijão-vagem. Sendo assim, estudos que objetivem o conhecimento da interação entre as linhagens de feijão-vagem e as bactérias diazotróficas podem contribuir no aumento da produtividade, resultando na diminuição da aplicação de fertilizantes, principalmente os nitrogenados.

### **3.2.2.3 Análise GT *Biplot***

*Biplot* é uma técnica multivariada, desenvolvida por Gabriel (1971) e utilizada na avaliação das relações entre os genótipos e as variáveis, simultaneamente. Esta análise representa graficamente uma matriz de dados, que permite observar, em um plano, a relação entre as linhas e colunas desta matriz (Godoi et al., 2012).

O modelo bilinear intitulado *Biplot* genótipos x ambientes (GGE *biplot*) foi proposto para avaliar a adaptabilidade e estabilidade fenotípica, considerando como relevante apenas o efeito de genótipo e da interação genótipos x ambientes (Yan et al., 2000). No entanto, esta metodologia pode ser utilizada para quaisquer dados bidirecionais que apresentarem uma disposição entrada x testador (Yan, 2001).

Yan e Rajcan (2002) comprovaram que o *Biplot* genótipos x características (GT *biplot*) é uma aplicação do método GGE *biplot*, que se mostra como uma excelente ferramenta para programas de melhoramento que visam comparar e selecionar genótipos que se destacam por apresentar boas características de interesse. O GT *biplot* é considerado um método preciso, robusto e integrado, que possibilita avaliar genótipos com base em múltiplas variáveis, a partir da componente principal da matriz (Maia et al., 2016).

Além disto, o GT *biplot* permite observar a correlação existente entre as características em estudo, plotando os valores de genótipos e variáveis no mesmo gráfico, mas em escalas diferentes (Yan e Frégeau-Reid, 2008; Oliveira et al., 2018a). Sendo assim, as variáveis podem apresentar vetores com ângulos iguais a 90° (nenhuma correlação), menores que 90° (positivamente correlacionados) ou maiores que 90° (negativamente correlacionados) (Yan e Fregeau-Reid, 2008).

Este método também detecta quais características são redundantes, podendo ser descartadas da análise, e quais são apropriados para seleção indireta da característica de interesse (Badu-Apraku e Akinwale, 2011).

Devido à confiabilidade e clareza na interpretação dos resultados, o GT *biplot* vem sendo utilizado em diferentes culturas, tendo sua eficiência comprovada por Mohammadi e Amri (2011), Sabaghinia et al. (2015), Atnaf et al. (2017) e Sharifi e Ebadi (2018) ao selecionarem genótipos de trigo, espinafre, tremoço-branco e arroz, respectivamente.

### 3.2.3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.2.3.1 Material genético e condução do experimento

Nos anos de 2016 e 2017 (de abril a agosto de cada ano), foram avaliadas seis linhagens de feijão-vagem, sendo quatro obtidos a partir de cruzamentos entre acessos do Banco de Germoplasma da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF e duas cultivares comerciais (Feltrin e *Topseed blue line*) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Descrição morfológica das progênes avaliadas

<b>Linhagens</b>	<b>Identificação</b>	<b>Florescimento</b>	<b>Cor da flor</b>	<b>Cor da vagem na maturação</b>
L2	Feltrin	37 dias	Branca	Amarela
L3	<i>Top seed blue line</i>	40 dias	Branca	Amarela
L4	UENF 7-3-1	37 dias	Rosa	Roxa
L5	UENF 7-4-1	40 dias	Rosa	Amarela
L7	UENF 7-6-1	41 dias	Branca	Amarela
L20	UENF 14-3-3	35 dias	Roxa	Roxa

Os trabalhos foram conduzidos em casa de vegetação, instalada nas dependências da UENF, localizada no município de Campos dos Goytacazes (21°45'44" latitude sul, 41°17'15" longitude oeste, temperatura média de 28 °C). O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, com quatro repetições, em esquema fatorial 6x2x2x2, onde os fatores foram: linhagens, anos e presença ou ausência de bactéria e fertilizante. As parcelas foram compostas por vasos de 5L, contendo substrato comercial Basaplant®, espaçados de 0,60 x 0,60 m. Utilizou-se na semeadura quatro sementes por vasos, cinco dias após a emergência das plântulas foi realizado o desbaste, deixando apenas uma planta por vaso. O tutoramento foi realizado 10 dias após a emergência, utilizando arame e fita de cetim.

A irrigação foi feita de forma manual, em quantidades padronizadas de acordo com o estágio da planta, e as parcelas adubadas receberam 30g de NPK, na proporção de 4-14-8, um mês após o plantio.

As linhagens receberam os seguintes tratamentos: i) B1F1: sementes não inoculadas com *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 e sem aplicação NPK; ii) B1F2: sementes não inoculadas com *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 e com aplicação de NPK; iii) B2F1: sementes inoculadas com *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 e sem aplicação de NPK; iiiii) B2F2: sementes inoculadas com *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 e com aplicação de NPK.

### **3.2.3.2 Cultivo bacteriano de *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5**

Esta etapa do trabalho foi realizada no Laboratório de Biotecnologia (LBT), do Centro de Biociências e Biotecnologia (CBB) da UENF.

Para obtenção de suspensões celulares de *G. diazotrophicus* necessárias para os ensaios de inoculação de sementes de feijão-vagem, a bactéria foi cultivada em meio DYGS (Rodrigues Neto, 1986), que tem a seguinte composição (g,L<sup>-1</sup>): glicose, 2; extrato de levedura, 2; peptona, 1,5; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,5; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,5; e ácido glutâmico, 1,5. O meio foi autoclavado a 1 atm por 20 min e o pH ajustado para 6,0 com KOH antes da esterilização.

Para preparo do pré-inóculo, uma alçada da cultura bacteriana mantida em meio sólido a 4 °C foi transferida para um frasco *Erlenmeyer* de 125 mL, coberto com fina manta de algodão e gaze, contendo 25 mL de meio. O frasco foi incubado em incubadora-agitadora de movimento recíproco (NOVA ÉTICA 430 RDB) a 30 °C e 120 min<sup>-1</sup> por 15 h. Uma alíquota de 5% (v/v) desta pré-cultura foi transferida para frascos *Erlenmeyer* de 500 mL contendo 100 mL de meio, os quais foram incubados por 18 h nas mesmas condições. A cultura assim obtida foi utilizada para os ensaios de inoculação das sementes, após diluição para a concentração celular desejada.

### **3.2.3.3 Inoculação das sementes de feijão-vagem**

As sementes de feijão-vagem foram desinfestadas superficialmente por imersão em etanol a 70% por um minuto, sendo, em seguida, lavadas quatro vezes com água ultrapura. As sementes assim desinfestadas foram imersas em suspensão bacteriana, obtida conforme descrito em na seção 3.2.3.2, com concentração celular corrigida para 10<sup>7</sup> ufc/mL, por 30 min. Após o tempo de contato das células bacterianas com as sementes, estas foram plantadas com auxílio de uma pinça esterilizada.

### **3.2.3.4 Variáveis avaliadas**

- Florescimento – contagem do total de dias entre o plantio ao florescimento;
- Dia de produção de vagens – contagem do total de dias do florescimento à produção de vagens;
- Produtividade de vagem - quantificação do peso total em gramas (g) das vagens de cada planta obtido por meio de balança de precisão;
- Produtividade de grãos - quantificação do peso total em gramas (g) dos grãos de cada planta após a debulha de vagens, por meio de balança de precisão;

- Peso de 100 grãos - pesagem de 100 sementes, de uma amostra escolhida aleatoriamente, em balança de precisão devidamente regulada;
- Total de vagens - contagem de vagens por planta;
- Comprimento de vagens - aferição em centímetros (cm) de vagens secas, utilizando régua;
- Largura de vagens - aferição em milímetros (mm) na posição central de vagens secas, utilizando paquímetro digital.

### 3.2.3.5 Análises estatísticas

Inicialmente, foi realizada uma análise de variância individual e, após constatar a homogeneidade dos dados, realizou-se a análise de variância conjunta considerando os efeitos de linhagens, anos, bactéria e fertilizante. Em seguida, utilizaram-se as médias fenotípicas de cada genótipo para a construção do *biplot*.

O modelo empregado para a análise multivariada GT *Biplot*, descrito segundo Yan e Rajcan (2002) foi:  $\frac{T_{ij} - \bar{T}_{ij}}{S_j} = \lambda_1 \zeta_{i1} \tau_{j1} + \lambda_2 \zeta_{i2} \tau_{j2} + \varepsilon_{ij}$ , em que,  $T_{ij}$  é valor observado no  $i$ -ésimo genótipo e  $j$ -ésima característica;  $\bar{T}_{ij}$  representa a média de todas as linhagens na característica  $j$ ;  $\lambda_1$  e  $\lambda_2$  valores singulares para CP1 e CP2, respectivamente;  $\zeta_1$  e  $\zeta_2$  escores de CP1 e CP2 para o genótipo  $i$ ;  $\tau_1$  e  $\tau_2$  escores de CP1 e CP2 para a característica  $j$ ;  $\varepsilon_{ij}$  resíduo do modelo associado com genótipo e característica;  $S_j$  estimativa de desvio padrão.

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do *software* R (R Foundation, 2017). Para gerar o gráfico GT *Biplot* utilizou-se o pacote GGEbiplotGUI do *software* R (Wickham, 2010).

## 3.2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância apresentou resultados significativos ( $0,01 \leq p \leq 0,05$ ) para ano, linhagens, bactérias e fertilizantes, na maioria das variáveis em estudo, demonstrando que houve variabilidade quanto ao desempenho nos diferentes anos e tratamentos a que foram submetidas (Tabela 2).

Da mesma forma, a interação bactéria x fertilizantes demonstrou comportamento diferenciado das bactérias quando na presença de fertilizantes. As significâncias das interações linhagens x fertilizantes, linhagens x bactérias e das interações triplas (L x B x F) e quádrupla (L x A x B x F) indicaram que houve comportamento diferenciado das linhagens e que as classificações destas mudaram de acordo com os tratamentos disponibilizados.

O comportamento diferenciado de diferentes culturas, quando inoculadas pela bactéria, também foram encontrados por Eskin et al., (2014), Souza et al., (2016) e Meneses et al., (2017). Os distintos desempenhos das linhagens, na presença da bactéria *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 e do fertilizante NPK, demonstram a necessidade de um estudo pormenorizado da real influência desses fatores no desempenho dessas linhagens.

**Tabela 2.** Estimativas dos quadrados médios das variáveis rendimento de vagens (RV), largura das vagens (LV), número de vagens (NV), comprimento de vagens (CV), rendimento de grãos (RG), peso de 100 sementes (P100G), floração (Flor) e data de produção de vagens (DPV), analisada nas linhagens de feijão-vagem.

FV	DF	QM							
		RV	LV	NV	CV	RG	P100G	Flor	DPV
Bloco (Ano)	6	120,73	12,25	166,89	58,16	206,45	203,94	9,57	52,53
Ano (A)	1	38386,94**	55,59*	25,21	116800,63**	21074,84**	21115,90**	42434,04**	234,99**
Linhagens (L)	5	16,97*	9,78	23,39*	108,39**	352,23**	353,50**	44,23**	28,60
Bactéria (B)	1	701,38**	38,08	179,12*	2820,90**	75,96*	72,58*	0,19	17,44
Fertilizante (F)	1	1042,68**	139,79**	0,10	207,54**	6,99	6,09	21,27	42,46
A x L	5	41,29	10,61	80,71	23,99	47,00	47,16	71,88**	97,01**
L x B	5	59,90*	10,22	24,68	68,52*	14,65*	14,24*	11,73	26,30
L x F	5	64,93*	19,03	109,01*	9,65	45,55	45,61	9,86	8,14
A x B	1	674,16**	113,01**	623,66**	2330,60**	43,14	40,64	18,46	40,56
B x F	1	554,61**	1,76	8,76*	545,89**	111,16	105,93	1,51	15,40
A x F	1	1202,10**	4,72	17,53	165,00*	66,65	63,84	54,90*	31,51
A x L x B	5	84,61*	8,78	70,32	61,39*	71,35	73,15	13,55	25,03
A x L x F	5	86,26**	5,78	158,70*	8,56	71,71	72,51	28,46	24,63
A x B x F	1	436,09**	99,59**	20,02*	471,58**	52,81	49,87	8,36	3,02
L x B x F	5	63,50*	2,92	85,21*	66,71*	30,39	30,55	12,39	10,41
L x A x B x F	5	69,29*	8,49	85,81*	61,35*	78,87*	79,73*	12,70	23,97
Resíduo	117	26,54	12,26	16,03	24,39	.....35,57	35,65	13,54	25,29
Média (kg*ha <sup>-1</sup> )		19,69	11,05	16,03	37,32	.....19,68	19,66	24,68	41,34

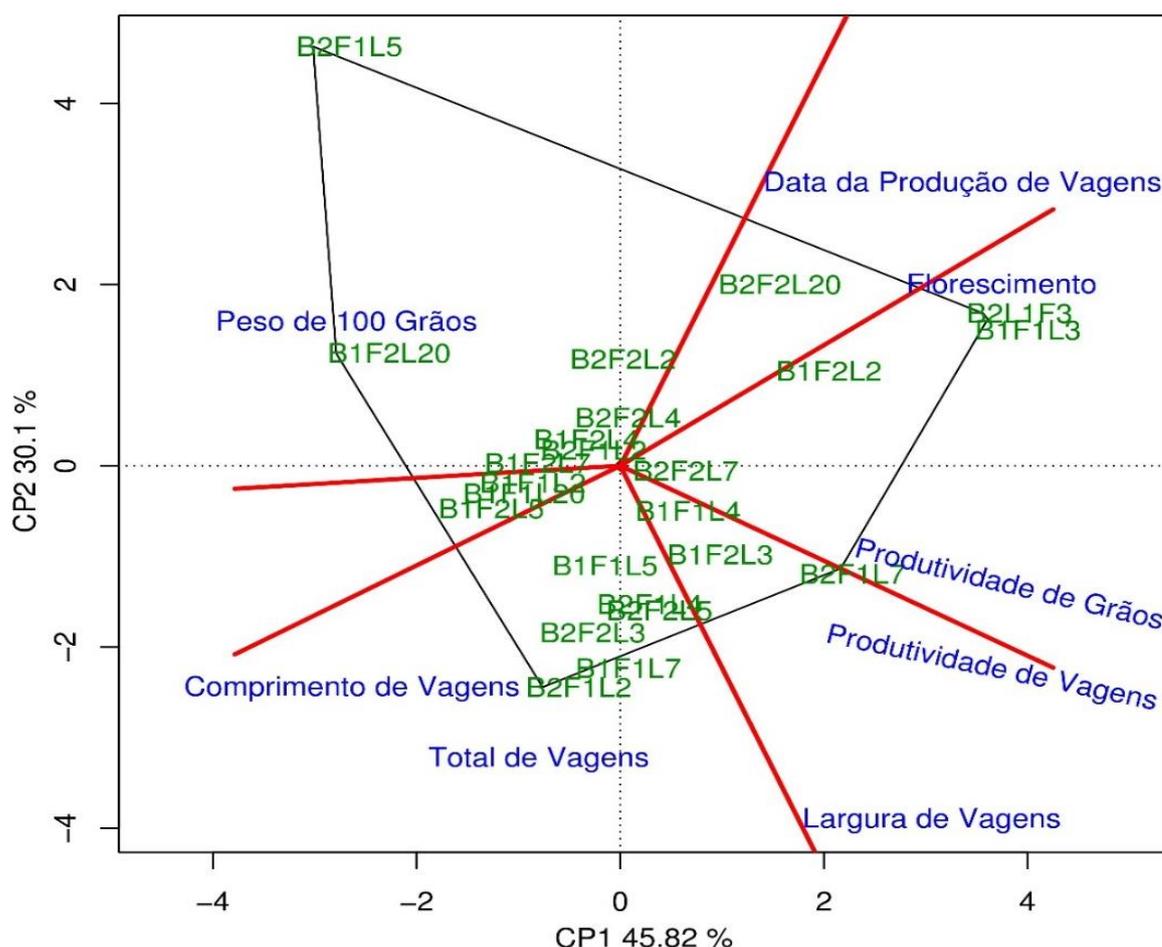
\* e \*\* indica significância de 5% e 1%, respectivamente pelo teste F.

Na análise *biplot* de genótipos x características (GT *Biplot*), os dois primeiros componentes principais (CPs) representaram um total de 75,92% da variação total (Figura 1). Este resultado indica que o GT *biplot* explicou uma grande proporção das somas dos quadrados de linhagens e da interação linhagens x características, sugerindo confiabilidade e clareza na interpretação dos resultados (Yan, 2001). Sendo assim, esta análise multivariada foi considerada apropriada para representar os padrões relacionados à interação, por proporcionar uma seleção segura das linhagens que apresentaram superioridade na performance dos caracteres estudados.

As linhagens que apresentaram melhores desempenhos podem ser visualizadas no *biplot* “*which-won-where*”. Este *biplot* é dividido em grupos, separados por linhas perpendiculares, onde as linhagens são identificadas de forma que aquelas alocadas nos vértices (linhagens de vértices) são as mais distantes da origem, sendo portanto classificadas como as mais responsivas para as variáveis pertencentes ao grupo onde estas se encontram (Yan, 2001; Santos et al., 2017; Oliveira et al., 2018b). Por outro lado, as linhagens que se apresentam dentro dos polígonos são menos responsivas, comparadas às linhagens dos respectivos vértices.

As variáveis avaliadas formaram cinco grupos distintos. O primeiro grupo incluiu as variáveis florescimento e produtividade de grãos. As características produtividade de vagens e largura de vagem formaram o segundo grupo. Já total de vagens e comprimento de vagens foram responsáveis pelo terceiro grupo. O quarto grupo apresentou apenas a variável peso de 100 sementes e o grupo cinco, data de produtividade de vagens.

Deste modo, os tratamentos B1F1L3 e B2F1L3, que se apresentaram no vértice do primeiro grupo, destacaram-se por apresentar maior rendimento de grãos e menor tempo para o florescimento. O grupo 2 exibiu o tratamento B2F1L7 em seu vértice, aferindo maior largura e rendimento de vagens e o B2F1L2, alocada no grupo 3, ressaltou-se por apresentar maiores comprimentos e total de vagem. O grupo 4 exibiu os tratamentos B1F2L20 e B2F1L5 como os mais responsivos para a variável peso de 100 sementes. Já o grupo 5, formado pela variável data da produção de vagens, não ostentou nenhum tratamento em seu vértice.

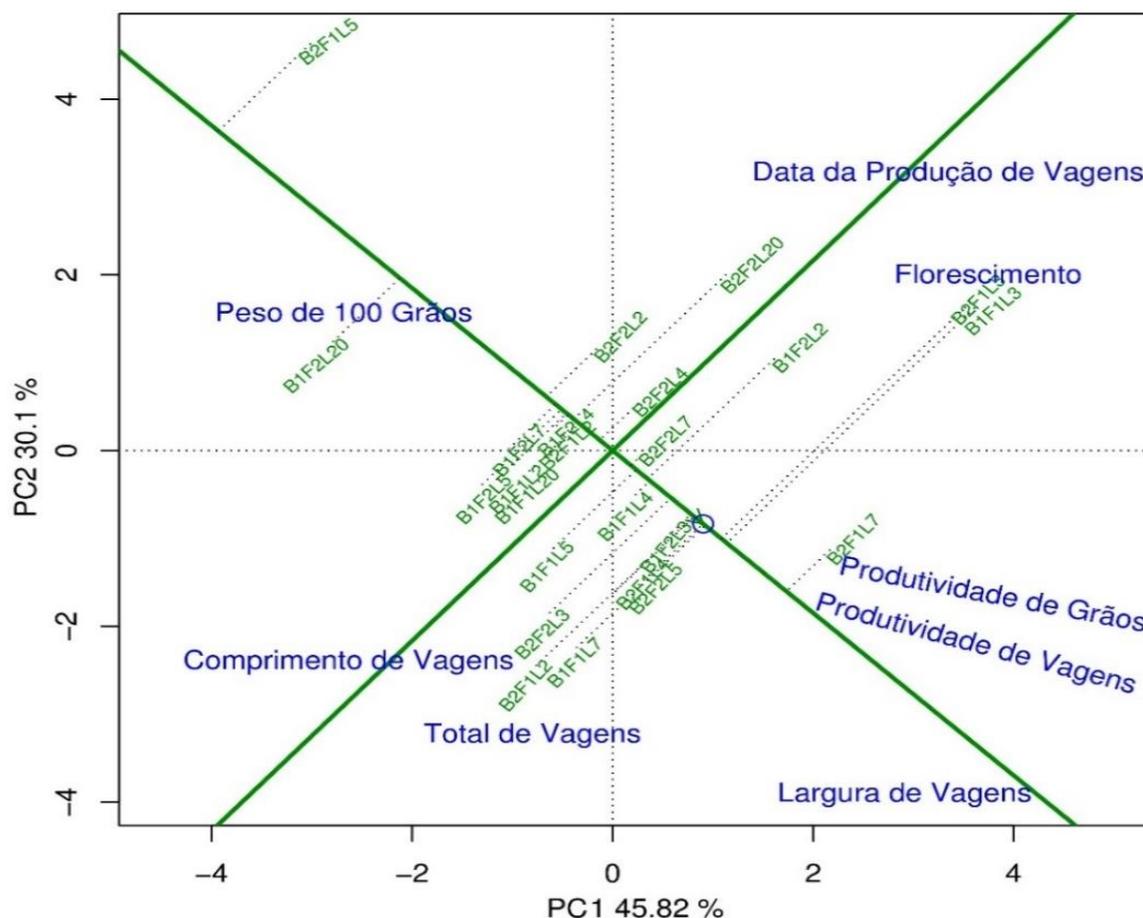


**Figura 1.** GT *biplot* “which-won-where” de linhagens de feijão-vagem.

Diferente destes, os tratamentos que se apresentaram fora dos grupos formados pelas variáveis são considerados não responsivos, não sendo recomendados como genitores em Programas de Melhoramento.

Cabe ressaltar que, pelo menos uma linhagem inoculada com *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 e sem aplicação de fertilizantes (A2B1) se apresentou nos vértices formados. Este resultado confirma a eficiência desta bactéria, na cultura de feijão-vagem. Os benefícios da inoculação da *Gluconacetobacter diazotrophicus*, para o crescimento da planta, também foi encontrado por Restrepo et al. (2017), Chauhan et al. (2013) e Luna et al. (2012).

Por meio do *biplot* “means x stabilities”, pôde-se avaliar a produtividade e a estabilidade das linhagens nos respectivos tratamentos (Figura 2). Segundo Yan e Rajcan (2002), a produtividade é definida pelo vetor mais longo em CP1, representada pela seta no centro do círculo concêntrico que aponta para o tratamento ideal.



**Figura 2.** GT *biplot* “means x stabilities” indicando o *rank* de rendimento das linhagens de feijão-vagem de acordo com as características.

Desta forma, as linhagens localizadas à esquerda e à direita do círculo concêntrico do *biplot* apresentam desempenho inferior e superior à média geral, respectivamente. Já a estabilidade é visualizada pelo vetor em CP2, onde, quanto menor a projeção de um determinado genótipo, mais próximo este estará do centro do *biplot*, sendo portanto, considerado o de maior estabilidade.

Consequentemente, as linhagens consideradas ideais devem apresentar valores elevados para CP1 (capacidade de alto rendimento) e menores para CP2 (alta estabilidade). Posto isso, os tratamentos B2F1L7, B1F1L3, B2F1L3, B1F1L7 e B2F1L4 se destacaram por apresentarem produtividade acima da média, respectivamente. Os tratamentos B1F1L4, B1F1L5, B1F2L2, B1F2L3, B2F1L2, B2F2L3, B2F2L5 e B2F2L7 apresentaram produtividade próxima à média geral e os demais representaram os menores rendimentos. No que diz respeito à estabilidade, os tratamentos B2F2L7, B1F1L4, B1F2L3 e B2F1L7 são os mais

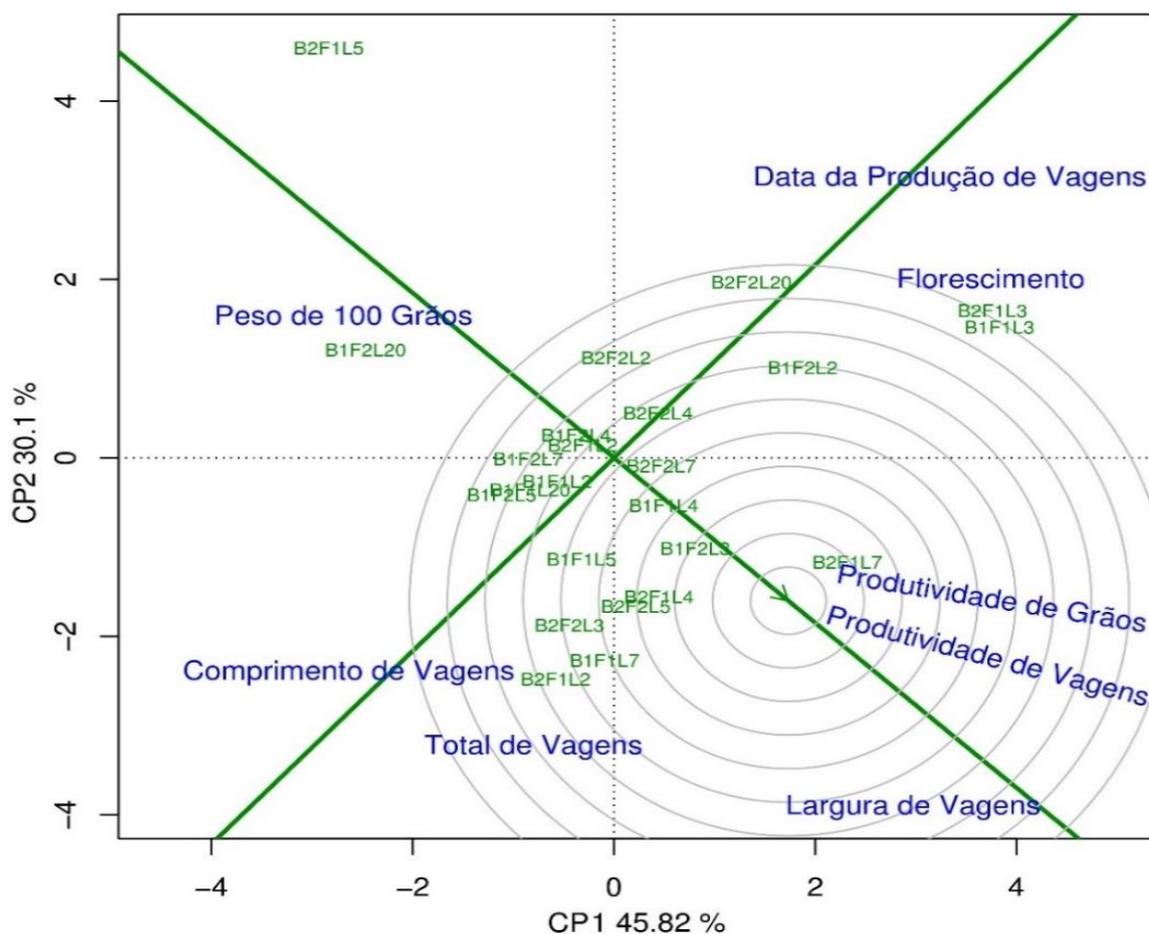
estáveis, nesta ordem. Já os tratamentos B1F1L3 e B2F1L3 apresentam menor estabilidade.

Estes resultados reforçam a superioridade das linhagens inoculadas com a *G. diazotrophicus* PAL5, sem aplicação de NPK, mencionada anteriormente. Além disto, percebe-se que as linhagens que foram inoculadas e adubadas (B2F2) se apresentaram, quase em sua maioria, como de baixa produtividade e estabilidade. A redução da eficiência de bactérias fixadoras de nitrogênio, quando na presença de fertilizantes, também foi encontrada por Reis et al. (2000), Carvalho et al. (2006) e Zhu et al. (2018).

No método GT *biplot*, a linhagem considerada como ideal apresenta maior comprimento do vetor em CP1 (maior poder de discriminação da linhagem em relação aos efeitos principais das linhagens) e menor vetor para CP2 (maior representatividade de todas as outras características), estando assim localizado o mais próximo possível da seta presente no centro dos círculos concêntricos (Yin e Huang, 2010) (Figura 3). Os demais círculos concêntricos auxiliam a visualização da distância dos genótipos.

Embora o genótipo ideal seja apenas representativo, não existindo de verdade, ele é usado como referência para avaliar os demais. Posto isto, a linhagem L7 na presença apenas da bactéria (B2F1L7) manteve média alta de produtividade e apresentou alta estabilidade fenotípica, sendo a mais desejada por ser considerada a mais próxima da ideal. Da mesma forma, os tratamentos B1F2L20, B2F2L20, B2F1L3 e B1F1L3 apresentaram as linhagens que dispuseram das piores classificações, respectivamente.

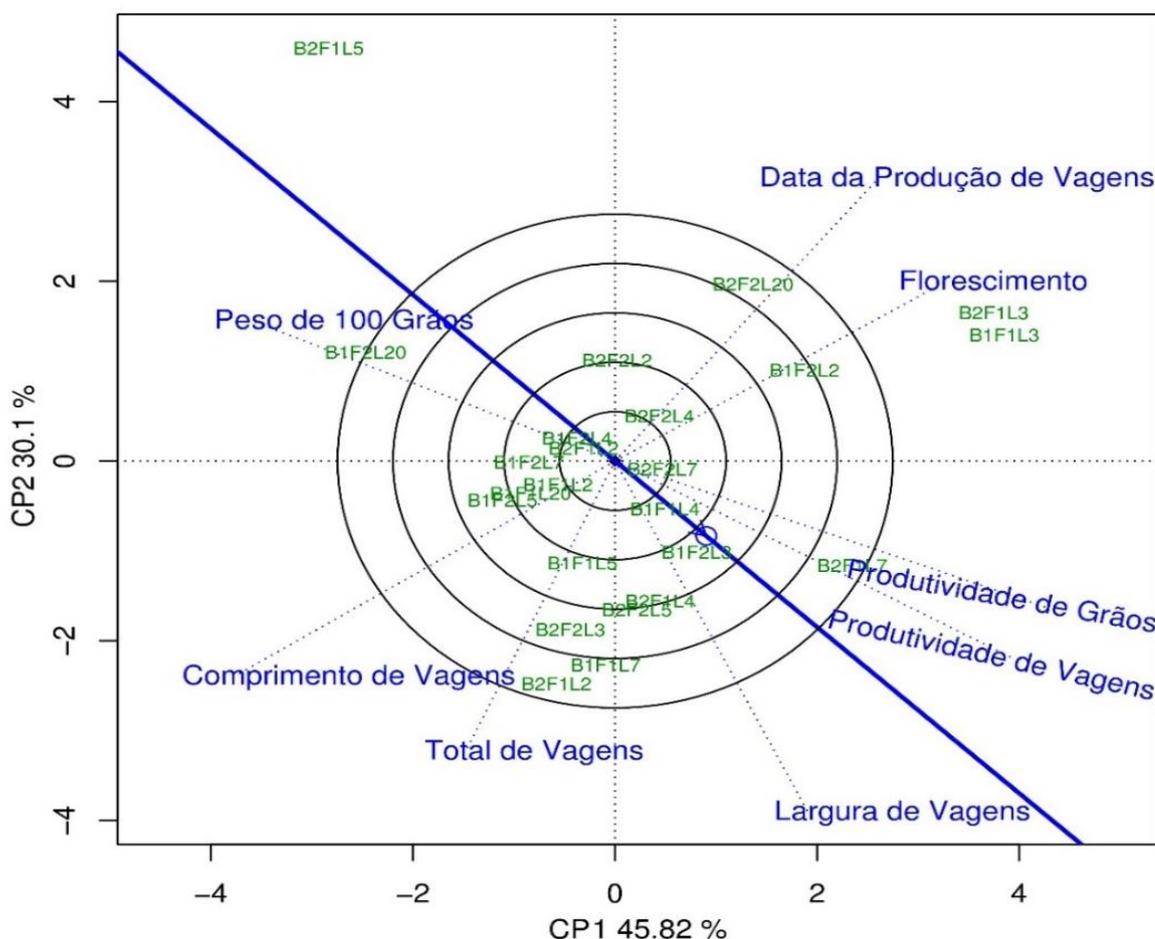
Vale ressaltar que a linhagem L7 considerada ideal, quando inoculada com *G. diazotrophicus* PAL5 e sem NPK (B2F1L7), não se apresentou entre as melhores classificações quando recebeu os dois tratamentos (B2F2L7) ou na ausência de bactéria (B1F1L7 e B1F2L7). O mesmo ocorreu para a linhagem L4, que ficou entre as melhores posições apenas quando recebeu o tratamento com inoculação da bactéria e sem NPK (B2F1L4). Estes resultados enaltecem a capacidade desta bactéria em obter melhores desempenhos nas linhagens de feijão-vagem, comparado à adubação mineral e/ou à ausência de tratamento.



**Figura 3.** GT *biplot* comparando as linhagens de feijão-vagem avaliados para estimar o genótipo ideal.

Outras informações importantes são as capacidades de discriminação e representatividade das características (Figura 4). No gráfico denominado “Discriminante vs Representante”, a capacidade de discriminar o genótipo é visualizada pelo tamanho dos vetores, onde, quanto maior o vetor, mais discriminante será a característica (Yan et al., 2007). Já as variáveis consideradas de maior representatividade, são aquelas que formam menores ângulos com a linha que apresenta o círculo formado com a seta, ou seja, com o ambiente médio (Yan e Tinker, 2006).

Sendo assim, uma variável considerada ideal deve discriminar as linhagens e ser representativa das outras características. Para tanto, esta deve apresentar altos valores de CP1 (maior capacidade de discriminação) e menores valores de CP2 (maior capacidade de representatividade). Diante disto, as variáveis produtividade de vagens, produtividade de grãos e peso de 100 sementes foram consideradas as mais discriminantes e representativas, favorecendo a seleção das linhagens com várias características de interesse.



**Figura 4.** GT *Biplot* “Discriminante vs Representante” de feijão-vagem com a discriminação e representatividade das características avaliadas.

A variável total de vagens foi considerada altamente discriminante e não representativa, podendo ser utilizada para selecionar linhagens que se destaquem para esta característica. As demais variáveis não foram destacadas como discriminantes nem como representativas, podendo ser descartadas (Yan e Tinker, 2006; Yan et al., 2007).

O ângulo formado entre os vetores de duas características fornece informações sobre o coeficiente de correlação existente entre eles. Esta correlação pode ser positiva, negativa ou mesmo ausência de correlação, caso os ângulos formados sejam agudos, obtusos ou retos, respectivamente.

Levando em consideração que as principais características são produtividade de vagens e de grãos, observa-se que estas foram altamente correlacionadas entre si e com largura de vagem e florescimento. Desta forma, a seleção de linhagens voltada para o ganho em uma dessas características, acarretará em ganhos nas demais. O inverso ocorre para seleção com base no

peso de 100 sementes e comprimento de vagens, que apresentaram correlações negativas com produtividade de vagens e grãos. Sendo assim, a seleção para ganhos destes, provocará perda nas variáveis peso de 100 sementes e comprimento de vagens.

Já a data da produção de vagens e total de vagens não apresentaram correlações com produtividade de vagens e grãos, podendo ser descartadas.

### 3.2.5 CONCLUSÕES

O modelo GT *biplot* explora de forma efetiva a interação linhagens x características, possibilitando boa acurácia na seleção de linhagens estáveis e com características agronômicas de interesse.

A bactéria endofítica *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 se mostrou eficiente na melhoria do desempenho das variáveis de feijão-vagem.

Na presença do fertilizante NPK, a *G. diazotrophicus* PAL5 perde sua eficácia.

A linhagem L7, apenas quando inoculada com a *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 e sem NPK, apresenta-se como linhagem ideal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, F.B., Leal, N.R., Rodrigues, R., Amaral Júnior, A.T.D., Silva, D. (2004) Divergência genética entre acessos de feijão-de-vagem de hábito de crescimento indeterminado. *Horticultura Brasileira* 22(3): 547-552.
- Ahmad, I., Altaf, M.M., Sharma, J., Al-Thubiani, A.S. (2016) Diversity, Quorum Sensing, and Plant Growth Promotion by Endophytic Diazotrophs Associated with Sugarcane with Special Reference to *Gluconacetobacter diazotrophicus*, In, *Plant-Microbe Interaction: An Approach to Sustainable Agriculture*. Ed. Springer, p. 495-509.
- Almeida, S.N.C., Thiebaut, J.T.L., Geraldo, A. G., Lanusse, C.A., Daher, R.F. (2014) Avaliação de características morfológicas e agrônômicas de linhagens de feijão-de-vagem em Bom Jesus do Itabapoana-RJ, com potencial de recomendação. *Vértices* 16: 39-50.
- Andrade, E.K.P., Andrade, A.R.S., Zamora, V.R.O., Silva, P.R.L.A., Santos, M.S., AZEVEDO, P.R. (2018) Estudos de periodicidades e de regiões pluviometricamente homogêneas no Agreste pernambucano. *Journal of Environmental Analysis and Progress* 3(1):100-117.

- Araújo, L.C., Gravina, G.A., Marinho, C.D., Almeida, S.N.C., Daher, R.F., Amaral Júnior, A.T. (2012) Contribution of components of production on snap bean yield. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 12(3):206-210.
- Arencibia, A.D., Vinagre, F., Estevez, Y., Bernal, A., Perez, J., Cavalcanti, J., Santana, I., Hemerly, A.S. (2006) Gluconoacetobacter diazotrophicus elicitate a sugarcane defense response against a pathogenic bacteria Xanthomonas albilineans. *Plant signaling & behavior* 1(5):265-273.
- Athanázio, J. (1993) Nova cultivar de feijão-de-vagem com hábito de crescimento determinado, In, *Adubação de feijão-vagem*. Ed. Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, p. 487
- Atnaf, M., Tesfaye, K., Dagne, K., Wegary, D. (2017) Genotype by trait biplot analysis to study associations and profiles of Ethiopian white lupin ('Lupinus albus' L.) landraces. *Australian Journal of Crop Science* 11(1):55-62.
- Babalola, O.O. (2010) *Beneficial bacteria of agricultural importance*, *Biotechnology letters* 32(11):1559-1570.
- Badu-Apraku, B., Akinwale, R. (2011) Cultivar evaluation and trait analysis of tropical early maturing maize under Striga-infested and Striga-free environments, *Field Crops Research* 121(1):186-194.
- Baldani, J.;Caruso, L., Baldani, V.L., Goi, S,R., Döbereiner, J. (1997) Recent advances in BNF with non-legume plants. *Soil Biology and Biochemistry* 29(6):911-922
- Baldani, J.I., Baldani, V.L. (2005) History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience, *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 77(3):549-579.
- Barbosa, M.L., Rezende, M.R.R., Costa, H.S.C., Maluf, W.R. (2001) *A cultura do feijão-vagem*. Ed. UFLA, p.6

- Barshan, E., Ghodsi, A., Azimifar, Z., Jahromi, M.Z. (2011) Supervised principal component analysis: Visualization, classification and regression on subspaces and submanifolds. *Pattern Recognition* 44(7):1357-1371.
- Bertini, C.H.C.D.M., Almeida, W.S., Silva, A.P.M., Silva, J.W.L., Teófilo, E.M. (2010) Análise multivariada e índice de seleção na identificação de genótipos superiores de feijão-caupi. *Acta Scientiarum Agronomy* 32(4):613-619.
- Bezerra, A.P.A., Pitombeira, J.B., Távora, J.A.F., Vidal Neto, F.D.C. (2008) Rendimento, componentes da produção e uso eficiente da terra nos consórcios sorgo x feijão-de-corda e sorgo x milho. *Revista Ciência Agronômica* 38(1):104-108.
- Bezerra, N.F., Andrade, F., Santos Júnior, J., Negreiros, M. (2001) Desempenho da cenoura em cultivo solteiro e consorciado com quatro cultivares de alface em dois sistemas de cultivo em faixas. *Horticultura Brasileira* 19(2).
- Blair, M, W., Pantoja, D., Hidalgo, R. (2007) Diversidad de faseolinas en frijol común cultivado del Caribe. *Acta Agronómica* 56(4):171-176.
- Cabral, P.D.S., Soares, T.C.B., Lima, A.B.S, SOARES, Y.J.S., Silva, J.A.D. (2011) Análise de trilha do rendimento de grãos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e seus componentes. *Revista Ciência Agronômica* 42(1):132-138.
- Carvalho, A., Leal, N., Rodrigues, R., Costa, F. (1999) Capacidade de combinação para oito caracteres agronômicos em cultivares de feijão de vagem de crescimento determinado. *Horticultura Brasileira* 17(2):102-105.
- Carvalho, A.V., Alves, B.J.R., Reis, V.M. (2006) Resposta do dendezeiro à adição de nitrogênio e sua influência na população de bactérias diazotróficas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41(2):293-300.
- Castellane, P., Carvalho, N. (1988) Feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.): *Cultivo e produção de sementes*. Ed. Funep, p.60.

- Cavalcante, V.A., Dobereiner, J.A. (1988) New acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane. *Plant and soil* 108(1):23-31.
- CEASA. (2010) Prohort - Programa Brasileiro de Modernização do Mercado de Hortigranjeiro. Disponível em: < <http://www.ceasa.gov.br/precos> >. Acesso em: 20/12/2018
- Chauhan, H., Bagyaraj, D., Sharma, A. (2013) Plant growth-promoting bacterial endophytes from sugarcane and their potential in promoting growth of the host under field conditions. *Experimental Agriculture* 49(1):43-52.
- Cocking, E.C., Stone, P.J., Davey, M.R. (2006) Intracellular colonization of roots of Arabidopsis and crop plants by *Gluconacetobacter diazotrophicus*. In *Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* 42(1):74-82.
- Correa Filho, D.V.B., Correia, E.C.S.D.S., Domingues Neto, F.J., Santos, D.V.D, Silva, T.A.D.,; Monteiro, R.N.F., Fontana, L.F. (2017) Crescimento e desenvolvimento de aveia preta em resposta à inoculação com *azospirillum* brasileiro e adubação nitrogenada. *Colloquium Agrariae* 13(2):01-08.
- Costa, D.D., Kempka, A.P., Skoronski, E.A. (2017) Contaminação de mananciais de abastecimento pelo nitrato: o panorama do problema no Brasil, suas consequências e as soluções potenciais. *Revista Eletrônica do PRODEMA* 10(2):49-61.
- Costa, J.G.C., Rava, C.A. (2003) *Linhagens de feijoeiro comum com fenótipos agrônômicos favoráveis e resistência ao crestamento bacteriano comum e antracnose*. Ed. Embrapa, p.1176-1182.
- Cronquist, A. (1968) The evolution and classification of flowering plants, *The evolution and classification of flowering plants*. Ed. Thomas Nelson & Sons Ltd, p.396.

- Cruz, C.D., Carneiro, P.C.S. (2014) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Ed. UFS, p.668.
- Cruz, C.D., Regazzi, A.J., Carneiro, P. (2001) *Métodos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Ed. UFV, p.512.
- Cunha, F.N., Silva, N.F., Bastos, F.J.D.C., Carvalho, J.J., Moura, L.M.D.F., Teixeira, M.B., Rocha, A.C., Souchie, E.L. (2015) Efeito da *Azospirillum brasilense* na produtividade de milho no sudoeste goiano. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo* 13(3):261-272.
- Dalfollo Ribeiro, N. (2010) *Potencial de aumento da qualidade nutricional do feijão por melhoramento genético*. *Semina: Ciências Agrárias* 31(1):1367-1376.
- Debouck, D.G.(1988) Phaseolus germplasm exploration, In, *Genetic resources of Phaseolus beans*. Ed. Springer, p. 3-29.
- Dunteman, G.H.(1989) *Principal components analysis*. Ed. Sage, p.96.
- Dwivedi, S.L., Sahrawat, K.L., Upadhyaya, H.D., Mengoni, A., Galardinl, M., Bazzicalupo, M., Biondi, E.G., Hungria, M., Kaschuk, G., Blair, M.W. (2015) Advances in host plant and rhizobium genomics to enhance symbiotic nitrogen fixation in grain legumes. *Advances in Agronomy* 129:1-116.
- EMBRAPA. (2018) Fixação biológica de nitrogênio. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/tema-fixacao-biologica-de-nitrogenio/nota-tecnica>>. Acesso em: 12/10/2018.
- Eskin, N., Vessey, K., Tian, L. (2014) Research progress and perspectives of nitrogen fixing bacterium, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, in monocot plants. *International journal of agronomy* 2014:1-13.
- FAO. (2014) Faostat .Disponível em: < [http://www.fao.org/index\\_en.htm](http://www.fao.org/index_en.htm) > ,

- Filgueira, F.A.R. (2013) *Novo manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. Ed. UFV, p.421.
- Francelino, F.M.A., Gravina, G.A., Manhães, C.M.C., Cardoso, P.M.R., Araújo, L.C. (2011) Avaliação de linhagens de feijão-de-vagem para as regiões Norte e Noroeste Fluminense. *Revista Ciência Agronômica* 42(2):554-56.
- Freitas, T.G.G., Lima, P.S., Dovale, J.C., Silva, E.M. (2016) Rendimento de grãos verdes e análise de trilha em variedades tradicionais de feijão-caupi. *Revista Caatinga* 29(4):866-877.
- Gabriel, K.R. (1971) *The biplot graphic display of matrices with application to principal component analysis*. *Biometrika* 58(3):453-467.
- Gasim, S., Hamad, S.A., Abdelmula, A., Ahmed, I.A.M. (2015) Yield and quality attributes of faba bean inbred lines grown under marginal environmental conditions of Sudan. *Food science & nutrition* 3(6):539-547.
- Gepts, P., Debouck, D.G. (1991) Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In: van Schoonhoven, A., Voysest, O. (eds.). *Common beans: research for crop improvement*. Ed. Kingdom, p.7-53.
- Germida, J., Freitas, J. (1998) *Nitrogen fixing rhizobacteria as biofertilizers for canola*, Ed. University of Saskatchewan, p.2.
- Gillis, M., Kersters, K., Hoste, B., Janssens, D., Kroppenstedt, R., Stephan, M., Teixeira, K.D.S., Dobereiner, J., Ley, J. (1989) *Acetobacter diazotrophicus* sp. nov., a nitrogen-fixing acetic acid bacterium associated with sugarcane. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 39(3):361-364.
- Glick, B.R. (2012) Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica* 2012:1-15.

- Godoi, D.R., Hongyu, K., Santos. (2012) D.C.T. In: 57<sup>a</sup> Reunião Anual da RBras, Piracicaba. 57<sup>a</sup> Reunião Anual da RBras, 2012.
- Guimarães, S.E.F., Lopes, P.S., Regazzi, A.J., Barbosa, L., Torres, R.D.A. (2006) Avaliação de características de qualidade da carne de suínos por meio de componentes principais. *Revista Brasileira de Zootecnia* 35(4):1639-1645.
- IBGE (2006) Sistema IBGE de Recuperação automática (SIDRA). Disponível em: < <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?z=t&o=19&i=P&c=818> >. Acesso em: 12/10/2018.
- Johnson, R.A., Wichern, D.W. (1998) *Applied multivariate statistical analysis*. Ed. Prentice-Hall, P.816.
- Melo, P.C.T., Vilela, N.J. (2007) Importância da cadeia produtiva brasileira de hortaliças. Disponível em: < [http://www.abhorticultura.com.br/downloads/cadeia\\_produtiva.pdf](http://www.abhorticultura.com.br/downloads/cadeia_produtiva.pdf) >. Acesso em: 20/12/2018.
- Kaplan, L. (1981) What is the origin of the common bean. *Economic Botany* 35(2):240-254.
- Kerstens, K., Lisdiyantl, P., Komagata, K., Swings, J. (2006) The family acetobacteraceae: the genera acetobacter, acidomonas, asaia, gluconacetobacter, gluconobacter, and kozakia, In, *The prokaryotes*. Ed. Springer, p.163-200.
- Kurek, A.J., Carvalho, F.I.F., Assmann, I.C., Cruz, P.J. (2001) Capacidade combinatória como critério de eficiência na seleção de genitores em feijoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 36(4):645-651.
- Laude, T., Carena, M. (2015) Genetic diversity and heterotic grouping of tropical and temperate maize populations adapted to the northern US Corn Belt, *Euphytica* 204(3):661-677.

- Leite, W.D.S., Pavan, B.E., Alcantara Neto, F., Matos Filho, C.H.A., Feitosa, F.S., Oliveira, C.B. (2016) Multivariate exploratory approach and influence of six agronomic traits on soybean genotypes selection. *Nativa* 4(4):206-210.
- Londero, P.M.G., Ribeiro, N.D., Cargnelutti Filho, A., Rodrigues, J.A., Antunes, I.F. (2006) Herdabilidade dos teores de fibra alimentar e rendimento de grãos em populações de feijoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41(1):51-58.
- Luna, M., Galar, M., Aprea, J., Molinari, M., Boiardi, J. (2010) Colonization of sorghum and wheat by seed inoculation with *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Biotechnology letters* 32(8):1071-1076.
- Luna, M.F., Aprea, J., Crespo, J.M., Boiardi, J.L. (2012) Colonization and yield promotion of tomato by *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Applied soil ecology* 61:225-229.
- Maia, M.C.C., Araújo, L.B.D., Dias, C.T.D.S., Oliveira, L.C.D., Vasconcelos, L. F. L., Carvalho Júnior, J.E.V.D., Simeão, M., Bastos, Y.G.M. (2016) Selection of mango oca genotypes in a breeding population using the multivariate-biplot method. *Ciência Rural* 46(10):1689-1694
- Maluf, W.R. (1994) *Melhoramento do Feijão-vagem: melhoramento de hortaliças*. Ed. UFV.
- Meneses, C., Gonçalves, T., Alquéres, S., Rouws, L., Serrato, R., Vidal, M., Baldani, J. (2017) *Gluconacetobacter diazotrophicus* exopolysaccharide protects bacterial cells against oxidative stress in vitro and during rice plant colonization. *Plant and Soil* 416(1):133-147.
- Meneses, C.H., Rouws, L.F., Simões-Araújo, J.L., Vidal, M.S., Baldani, J.I. (2011) Exopolysaccharide production is required for biofilm formation and plant colonization by the nitrogen-fixing endophyte *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Molecular plant-microbe interactions* 24(12):1448-1458.

- Mirza, M.S., Ahmad, W., Latif, F., Haurat, J., Bally, R., Normand, P., Malik, K.A. (2001) Isolation, partial characterization, and the effect of plant growth-promoting bacteria (PGPB) on micro-propagated sugarcane in vitro. *Plant and Soil* 237(1):47-54.
- Mohammadi, R., Amri, A. (2011) Graphic analysis of trait relations and genotype evaluation in durum wheat. *Journal of crop improvement* 25(6):680-696.
- Moita Neto, M.J. (2004) Estatística multivariada. Disponível em: <[http://www.mat.ufrgs.br/~viali/cursos/ceea/multi/textos/Moita\\_Neto.pdf](http://www.mat.ufrgs.br/~viali/cursos/ceea/multi/textos/Moita_Neto.pdf)> Acesso em: 14 de fevereiro de 2018.
- Montañez, A., Abreu, C., Gill, P.R., Hardarson, G., Sicardi, M. (2009) Biological nitrogen fixation in maize (*Zea mays* L.) by <sup>15</sup>N isotope-dilution and identification of associated culturable diazotrophs. *Biology and fertility of soils* 45(3):253-263.
- Moreira, F., Huising, E., Bignell, D.E. (2010) *Manual de biologia dos solos tropicais: amostragem e caracterização da biodiversidade*. Ed. UFLA, p.367.
- Moreira, R.M.P., Ferreira, J.M., Takahashi, L.S.A., Vanconcelos, M.E.C., Geus, L.C., Botti, L. (2009) Potencial agrônômico e divergência genética entre genótipos de feijão-vagem de crescimento determinado Agronomic potential and genetic divergence among genotypes of bush snap bean. *Semina* 30(1):1051-1060.
- Moroco, J. (2003) Análise de Componentes Principais. In, *Análise Estatística com Utilização do SPSS*. Ed. Sílabo, p.230-257.
- Muniz, C.A.S.D., Queiroz, S.A., MAscioli, A.D.S., Zadra, L.E.F. (2014) Análise de componentes principais para características de crescimento em bovinos de corte. *Semina* 35(3):1569-1576.

- Muthukumarasamy, R., Revathi, G., Seshadri, S., Lakshminarasimhan, C. (2002) *Gluconacetobacter diazotrophicus* (syn, *Acetobacter diazotrophicus*), a promising diazotrophic endophyte in tropics. *Current Science* 83(2):137-145.
- Rural News. (2015) A vagem e sua cultura. Disponível em: <http://www.ruralnews.com.br/visualiza.php?id=97>.
- Oca, G. (1987) Mejoramiento genético de la habichuela en el CIAT y resultados de viveros internacionales. In: Davis, J., Jassem, W. *El Mejoramiento genético de la habichuela in America Latina: memorias de un taller*. Ed. CIAT, p.234.
- Oladejo, A., Akinwale, R., Obisesan, I. (2011) Interrelationships between grain yield and other physiological traits of cowpea cultivars. *African Crop Science Journal* 19(3):189-200.
- Oliveira, M.V.V., Intorne, A.C., Vespoli, L.D.S., Madureira, H.C., Leandro, M, R., Pereira, T.N., Olivares, F.L., Berbert-Molina, M.A., Souza Filho, G.A. (2016) Differential effects of salinity and osmotic stress on the plant growth-promoting bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5. *Archives of microbiology* 198(3):287-294.
- Oliveira, T.R.A.O., Gravina, G.A., Oliveira, G.H., Araujo, L.C., Araújo, K.C., Cruz, D.P., Amaral Junior, A.T., Vivas, M., Daher, R.F. (2018a) Multivariate analysis used as a tool to select snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. *Australian Journal of Crop Science* 12(1):67-73.
- Oliveira, T.R.A.O., Gravina, G.A., Oliveira, G.H., Araújo, K.C., Araujo, L.C., Daher, R.F., Vivas, M., Gravina, L.M., Cruz, D.P. (2018b) The GT biplot analysis of green bean traits. *Ciência Rural* 48(06):1-6.
- Oliveira, T.R.A.O., Gravina, G.A., Cruz, D.P., Silva, N.D., Oliveira, G.H., Sant'Anna, C.Q.S.S., Magalhães, M.M., Berbet-Molina, M.A., Alcântara Neto, F. (2019) The performance of beans pod lineage inoculated with *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5. *Scientia Horticulturae* 249(2019):65-70.

- Paramesh, M., Reddy, D., Priya, M.S., Sumathi, P., Sudhakar, P., Reddy, K. (2016) GT biplot analysis for yield and drought related traits in mung bean (*Vigna radiata* L, Wilczek). *Electronic Journal of Plant Breeding* 7(3):538-543.
- Peixoto, N., Braz, L.T., Banzatto, D.A., Moraes, E.A., Moreira, F.D.M. (2002) Resposta de feijão-vagem a diferentes níveis de fertilidade. *Horticultura Brasileira* 20(4):593-596.
- Pereira, D.S., Nóbrega, R.S.A., Lustosa Filho, J.F., Dias, A.S., Veloso, G.S., Souza, E. (2018) Crescimento e nodulação natural de feijão-caupi em solos de mineração de chumbo adubados com resíduo de sisal. *Brazilian Journal of Sustainable Agriculture* 7(4):34-42.
- Polhill, R. (1981) Evolution and systematics of the Leguminosae. *Advances in Legume Systematics* 1:1-26.
- Prieto-Moreno, A., Llanes-Santiago, O., García-Moreno, E. (2015) Principal components selection for dimensionality reduction using discriminant information applied to fault diagnosis. *Journal of Process Control* 33:14-24.
- Procópio, S.D.O., Fernandes, M.F., Teles, D.A., Sena Filho, J.G., Cargnelutti Filho, A., Vargas, L. (2013) Tolerância da bactéria diazotrófica *Gluconacetobacter diazotrophicus* a herbicidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 8(4):610-617.
- R Foundation. (2017) R: the R project for statistical computing. Disponível em: < <https://www.r-project.org/> >. Acesso em: 05/10/2018.
- Reis, V.M., Baldani, J.I., Baldani, V.L.D., Dobereiner, J. (2000) Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. *Critical Reviews in Plant Science* 19(3):227-247.
- Restrepo, G.M., Sanchez, O.J., Marulanda, S.M., Galeano, N.F., Taborda, G. (2017) Evaluation of plant-growth promoting properties of *Gluconacetobacter*

diazotrophicus and Gluconacetobacter sacchari isolated from sugarcane and tomato in West Central region of Colombia. *African Journal of Biotechnology* 16(30):1619-1629.

Ribeiro, N.D., Domingues, L.S., Zemolin, A.E.M. (2014) Avaliação dos componentes da produtividade de grãos em feijão de grãos especiais. *Científica* 42(2):178-186.

Rodrigues Neto, J. (1986) *Meio simples para o isolamento e cultivo de Xanthomonas campestris pv, citri tipo B. Summa Phytopathol* 12(1):1-16.

Rodrigues, R. (1997) *Análise genética da resistência ao crestamento bacteriano comum e outras características agronômicas em Phaseolus vulgaris L.* (Tese de doutorado)-Universidade Estadual do Norte Fluminense, p.103.

Rosolem, C.A., Foloni, J.S.S., Oliveira, R.H. (2003) Dinâmica do nitrogênio no solo em razão da calagem e adubação nitrogenada, com palha na superfície. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 38(2):301-309.

Sabaghnia, N., Behtash, F., Janmohammadl, M. (2015) Graphic Analysis of Trait Relations of Spinach (*Spinacia oleracea* L.) Landraces Using the Biplot Method,. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* 63(4):1187-1194.

Santos, A., Braga, D.C., Correa, A.M., Melo, C.L.P., Silva, J.A.S., Lima, A. R.S., Rodrigues, E.V. (2015) Escolha de genitores de feijão-comum baseado na divergência genética. *Agrarian* 8(29):235-245.

Santos, A.D., Amaral Júnior, A.T., Kurosawa, R.D.N.F., Gerhardt, I.F.S., Fritsche Neto, R. (2017) GGE Biplot projection in discriminating the efficiency of popcorn lines to use nitrogen. *Ciência e Agrotecnologia* 41(1):22-31.

Santos, D., Siqueira, D.L., Salomão, L.C.C., Cecon, P.R., Oliveira, G.P., Machado, D.L.M., Zucoloto, M. (2014) Teores de carboidratos e fluorescência da clorofila

a em folhas de limeiras ácidas' Tahiti'submetidas ao anelamento e incisão anelar de ramos. *Ciência Rural* 44(10):1725-1731.

- Saravanan, V.S., Osborne, J., Madhaiyan, M., Mathew, L., Chung, J., Ahn, K., SA, T. (2007) Zinc metal solubilization by *Gluconacetobacter diazotrophicus* and induction of pleomorphic cells. *Journal of microbiology and biotechnology* 17(9):1477-1482.
- Sebastiá, V., Barberá, R., Farré, R., Lagarda, M.J. (2001) Effects of legume processing on calcium, iron and zinc contents and dialysabilities. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81(12):1180-1185.
- Sharifi, P., Ebadi, A. A. (2018) Relationships of rice yield and quality based on genotype by trait (GT) biplot. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 90(1):343-356.
- Silva, S.C., Sbrissia, A.F. (2010) Análise de componentes principais entre características morfogênicas e estruturais em capim-marandu sob lotação contínua. *Ciência Rural* 40(3):690-693.
- Silveira, E. (2008) *Inoculações de bactérias promotoras de crescimento no cultivo de arroz em solução nutritiva*, Tese (tese de doutorado)-Universidade Estadual Paulista, p.83.
- Singh, C.M., Mishra, S., Anil, P. (2014) Pattern of agro-morphological trait relationship and genetic divergence in greengram [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]. *Electronic Journal of Plant Breeding* 5(1):97-106.
- Singh, S.P. (2001) Broadening the genetic base of common bean cultivars: a review,(Review & Interpretation). *Crop Science* 41(6):1659-1676.
- Sousa, C.M.B.(2015) *Seleção de progênies f2 de feijão-vagem para produção via modelos mistos* (dissertação de mestrado)-Universidade Estadual do Norte Fluminense, p.56.

- Souza, A.R., Souza, S., Oliveira, M., Ferraz, T., Figueiredo, F., Silva, N., Rangel, P., Panisset, C., Olivares, F., Campostrini, E. (2016) Endophytic colonization of *Arabidopsis thaliana* by *Gluconacetobacter diazotrophicus* and its effect on plant growth promotion, plant physiology, and activation of plant defense. *Plant and soil* 399(1):257-270.
- Suzuki, K., Takeda, H., Tsukaguchi, T., Egawa, Y. (2001) Ultrastructural study on degeneration of tapetum in anther of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under heat stress. *Sexual Plant Reproduction* 13(6):293-299.
- Teixeira, A.B., Amaral Júnior, A.T., Rodrigues, R., Pereira, T.N.S., Bressan-Smith, R.E. (2004) Genetic divergence in snap-bean (*Phaseolus vulgaris* L.) evaluated by different methodologies. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 4(1):57-62.
- Tessarioli Neto, J., Groppo, G.A. (1992) *A cultura do feijão-vagem*. Ed. Embrapa, p.11.
- Trannin, I., Moreira, F.D.S., Siqueira, J. (2001) Crescimento e nodulação de *Acacia mangium*, *Enterolobium contortisiliquum* e *Sesbania virgata* em solo contaminado com metais pesados. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 25(3):743-753.
- Tsukaguchi, T., Kawamitsu, Y., Takeda, H., Suzuki, K., Egawa, Y. (2003) Water status of flower buds and leaves as affected by high temperature in heat-tolerant and heat-sensitive cultivars of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Production Science* 6(1):24-27.
- Vavilov, N.I. (1931) Linnaeus species as a system. *Bulletin Applied Botanic Genetic* 26:109-134.
- Vilhordo, B.W., Mikusinski, O.M.F., Burin, M.E., Gandolf, V.H. (1996) Morfologia, In Araújo, R.S., Rava, C.A., Stone, L.F., Zimmermann, M.J.O (eds.). *Cultura do*

*feijoeiro: fatores que afetam a produtividade. Ed. Associação Brasileira para pesquisa da potassa e do fosfato, p.669 -700.*

- Vitousek, P.M., Menge, D.N., Reed, S.C., Cleveland, C.C. (2013) Biological nitrogen fixation: rates, patterns and ecological controls in terrestrial ecosystems, *Philosophical Transactions of the Royal Society B. Biological Sciences* 368(1621):1-9.
- Wickham, H. (2010) ggplot2: elegant graphics for data analysis. *J Stat Softw* 35(1): 65-88.
- Yan, W. (2001) GGEbiplot—a Windows application for graphical analysis of multienvironment trial data and other types of two-way data. *Agronomy Journal* 93(5):1111-1118.
- Yan, W., Frégeau-Reid, J. (2008) Breeding Line Selection Based on Multiple Traits All rights reserved *Crop Science* 48(2):417-423.
- Yan, W., Hunt, L., Sheng, Q., Szlavnic, Z. (2000) Cultivar evaluation and mega-environment investigation based on the GGE biplot. *Crop Science* 40(3):597-605.
- Yan, W., Kang, M.S., Ma, B., Woods, S., Cornelius, P.L. (2007) GGE biplot vs, AMMI analysis of genotype-by-environment data. *Crop science* 47(2):643-653.
- Yan, W., Rajcan, I. (2002) Biplot analysis of test sites and trait relations of soybean in Ontario. *Crop Science* 42(1):11-20.
- Yan, W., Tinker, N.A. (2006) Biplot analysis of multi-environment trial data: Principles and applications. *Canadian journal of plant science* 86(3):623-645.
- Yang, H., Harrington, C.A., Vartanian, K., Coldren, C.D., Hall, R., Churchill, G.A. (2008) *Randomization in laboratory procedure is key to obtaining reproducible microarray results.* PLoS One 3(11):1-11

Yang, R.C., Crossa, J., Cornelius, P.L., Burgueño, J. (2009) Biplot analysis of genotypex environment interaction: Proceed with caution. *Crop Science* 49(5):1564-1576.

Yin, H., Huang, W. (2010) Adaptive nonlinear manifolds and their applications to pattern recognition. *Information Sciences* 180(14):2649-2662.

Zhu, C., Tian, G., Luo, G., Kong, Y., Guo, J., Wang, M., Guo, S., Lin, N., Shen, Q. (2018) A associação induzida por fertilizantes nitrogenados entre a comunidade fúngica micorrízica arbuscular e a comunidade diazotrófica afeta o rendimento do trigo. *Agricultura, ecossistemas e meio ambiente* 254:191-201.