

**JUCIMARA ALVES SILVA**

**IMPLICAÇÕES NA SELEÇÃO DOS MÉTODOS DE FENOTIPAGEM DE RAIZ  
EM POPULAÇÕES COM DISTINTOS NÍVEIS DE HETEROZIGOSE**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Produção vegetal.

Orientador: Dr. Jefferson Luís Meirelles Coimbra

Co-orientador: Dr. Silmar Primieri

**Lages, SC**

**2020**

Dedico este trabalho a minha família, e principalmente a minha mãe e minhas irmãs, pela força, pelo apoio, e por sempre me incentivarem para que eu chegasse até aqui.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela dádiva da vida, por me conceder a força para enfrentar os obstáculos ao longo da caminhada, e pela sabedoria para esperar a colheita dos frutos dos meus esforços;

A minha mãe, por todo o amor e dedicação. Agradeço por me incentivar e mostrar que nada vem fácil, que cada conquista vem de uma luta diária, e principalmente que o amor é além dos laços sanguíneos.

As minhas irmãs por todo o carinho, apoio e incentivo. Agradeço por sempre acreditarem nos meus sonhos, e no meu melhor mesmo em dias difíceis;

Ao meu namorado, pelo apoio, e mesmo a distância demonstrar parceria incondicional, buscando sempre incentivar o meu crescimento profissional;

Ao Prof. Dr. Jefferson Luís Meirelles Coimbra, pelo bem precioso que levarei por toda vida, o conhecimento. Pois, felizes os que tem a dádiva do conhecimento e não guardam apenas para si, e sim compartilham com os outros;

Ao Prof. Dr. Altamir Frederico Guidolin, pela ajuda e por compartilhar seus conhecimentos e experiência profissional durante todo o mestrado;

Ao meu coorientador Prof. Dr. Silmar Primieri, pela disponibilidade em ajudar, e pelos ensinamentos gentilmente divididos;

Aos meus colegas de laboratório do Grupo IMEGEM, por toda a ajuda oferecida e pelos aprendizados durante toda o período de pós-graduação;

As minhas amigas Inayara Albuquerque e Emanuelle Barichello, por dividirem comigo essa etapa tão importante e essencial. Agradeço por todo apoio, incentivo e amizade;

Aos meus amigos Betel e Adam, pelo incentivo e apoio durante todo esse período.

Ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade do Estado de Santa Catarina, pela oportunidade de ensino, e possibilidade de crescimento profissional;

Aos membros da banca examinadora, por terem aceitado contribuir de forma positiva para melhorias no trabalho;

A CAPES pelo apoio financeiro no decorrer de toda essa pesquisa;

E a todos que de alguma forma contribuíram direta e indiretamente para a conclusão deste trabalho.

“O que prevemos raramente ocorre; o que menos esperamos geralmente acontece”

Benjamin Disraeli

## RESUMO

SILVA, Jucimara Alves. **Implicações na seleção dos métodos de fenotipagem de raiz em populações com distintos níveis de heterozigose.** 2020. 42 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Lages, 2020.

A cultura do feijão pode ser afetada por condições de cultivo adversas, como por exemplo, déficit hídrico. A fenotipagem do sistema radicular, pode possibilitar a seleção de plantas com desempenho genético distinto nestas condições limitantes. Entretanto, o processo de avaliação deste caráter a campo não tem sido realizado de forma rotineira nos programas de melhoramento. Em razão, dos métodos de fenotipagem aplicados a campo serem considerados trabalhosos e demorados, ocasionando as vezes, uma limitação no progresso do melhoramento genético. Limitações, que acabam direcionando os estudos de avaliação de raiz, a métodos de fenotipagem aplicados em ambiente de casa de vegetação, porém, não refletindo condições reais de cultivo. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar dois métodos de fenotipagem de raiz na discriminação genética de populações fixas e segregantes de feijão. Para a realização deste estudo, foram utilizados sete genitores de grupos gênicos distintos (mesoamericano e andino), seguido de nove populações fixas e quatorze populações segregantes de feijão. Destas constituições genotípicas, foram conduzidas trinta populações em campo e casa de vegetação. Para o processo de avaliação do sistema radicular, foram correlacionados dois métodos de fenotipagem: *i) Shovelomics* *ii) Análise digitais de imagens (WinRhizo®)*. Os resultados obtidos demonstraram que os métodos avaliados apresentaram uma associação negativa e significativa na discriminação das populações fixas e segregantes, comparativamente. Por exemplo, na comparação entre os métodos na geração F<sub>3</sub> o coeficiente de correlação linear simples refletiu uma associação negativa e significativa ( $r=-0.6$ ). Fato este, indica a importância da seleção do método apropriado para que o pesquisador diferencie as plantas segregantes pela sua superioridade genética e não pelo efeito ambiente. De modo, o método *Shovelomics* deve ser o escolhido para caracterização de populações segregantes de feijão.

**Palavras chaves:** *Phaseolus vulgaris* L. Sistema radicular. Gerações segregantes.

## ABSTRACT

SILVA, Jucimara Alves. **Implications in the selection of root phenotyping methods in populations with different levels of heterozygosity**. 2020. 42 p. Dissertation (Master's in Plant Production) – State University of Santa Catarina. Postgraduate in Plant Production, Lages, 2020.

The bean culture can be affected by adverse growing conditions, for example, water deficit. The phenotyping of the root system may allow the selection of plants with different genetic performance in these limiting conditions. However, the process of evaluating this character in the field has not been carried out routinely in breeding programs. Because, of phenotyping methods applied to the field considered laborious and time consuming, causing the times, a limitation in the progress of genetic improvement. Limitations, that end up directing the root evaluation studies, to phenotyping methods applied in a greenhouse environment, however, not reflecting actual growing conditions. Thus, the objective of this work was to evaluate two methods of root phenotyping in the genetic discrimination of fixed and segregating bean populations. To carry out this study, were used seven parents of distinct genetic groups (Mesoamerican and Andean), followed by nine fixed populations and fourteen segregating bean populations. Of these genotypic constitutions, thirty populations were conducted in the field and greenhouse. For the evaluation process of the root system, two phenotyping methods were correlated: *i*) Shovelomics *ii*) Digital image analysis method (WinRhizo ®). The results obtained demonstrated that the evaluated methods presented a negative and significant association in the discrimination of fixed and segregating populations, comparatively. For example, when comparing the methods in the F<sub>3</sub> generation, the simple linear correlation coefficient reflected a negative and significant association ( $r = -0.6$ ). This fact, indicates the importance of selecting the appropriate method for the researcher to differentiate segregating plants by their genetic superiority and not by the environmental effect. So, the Shovelomics method should be chosen to characterize segregating bean populations.

**Keywords:** Phaseolus vulgaris L. Root system. Segregating generations.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Representação do método de fenotipagem Shovelomics ..... 43
- Figura 2** - Representação do método de fenotipagem Análise digitais de imagens pelo equipamento Scanner de raiz. .... 43
- Figura 3** - Representação da imagem digitalizada pelo Software WinRhizo ®..... 43

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Características dos genitores utilizados para a obtenção das populações fixas  $F_1$  e segregantes  $F_2$ ,  $F_3$  em feijão..... 20
- Tabela 2** - Resumo da análise de variação para as variáveis determinadas: ângulo de raiz (AR), comprimento horizontal esquerdo (CHE), comprimento horizontal direito (CHD), massa fresca da raiz (MFR), massa seca da raiz (MSR), comprimento de raiz (CR), área superficial (AS), comprimento/volume (C/V), volume de raiz (VOL) e número de pontas de raiz (NPR), considerando os valores de quadrado médios e graus de liberdade (GL) nos diferentes métodos de fenotipagem. .... 27
- Tabela 3** - Medidas de associações entre matrizes formadas entre populações fixas e segregantes de feijão, dentro e entre os métodos de fenotipagem Shovelomics e Análise digitais de imagens (WinRhizo®)..... 30



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	9
1.1	CARACTERÍSTICAS DA CULTURA.....	9
1.2	MELHORAMENTO GENÉTICO DO FEIJÃO.....	10
1.3	IMPORTÂNCIA DO SISTEMA RADICULAR.....	12
<b>1.4</b>	<b>MÉTODOS DE FENOTIPAGEM DE RAIZ</b> .....	13
1.4.1	MÉTODO <i>SHOVELOMICS</i> .....	15
1.4.2	MÉTODO ANÁLISE DIGITAIS DE IMAGENS (WINRHIZO ®).....	16
2	IMPLICAÇÕES NA SELEÇÃO DOS MÉTODOS DE FENOTIPAGEM DE RAIZ EM POPULAÇÕES COM DISTINTOS NÍVEIS DE HETEROZIGOSE.....	17
2.1	INTRODUÇÃO.....	17
2.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	18
<b>2.2.1</b>	<b>Constituições genóticas</b> .....	18
2.2.2	Delineamento experimental (campo) – Experimento 1.....	19
□	<b>Método <i>Shovelomics</i> (campo)</b> .....	20
2.2.3	Delineamento experimental (casa de vegetação) – Experimento 2.....	20
□	<b>Método Análise digitais de imagens (WinRhizo ®)</b> .....	21
<b>2.2.4</b>	<b>Análise Estatística</b> .....	21
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
2.4	CONCLUSÃO.....	34
3	REFERÊNCIAS.....	35
	<b>APÊNDICE</b> .....	41

# 1 REVISÃO DE LITERATURA

## 1.1 CARACTERÍSTICAS DA CULTURA

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) pertence à família Fabaceae, é denominado como uma espécie autógama e diploide ( $2n = 2x = 22$ ), que pode apresentar hábito de crescimento determinado e indeterminado. No crescimento determinado, as plantas possuem caule principal e ramos laterais terminando em uma inflorescência, com floração que iniciar do ápice para a base da planta. Em contrapartida, no crescimento indeterminado, as plantas possuem caule principal com crescimento contínuo, inflorescência axilares e floração que iniciar na base até o ápice da planta (ARRUDA, 2017). Ainda dentro dessas características, as cultivares de feijão também apresentam hábito de crescimento classificados em tipo I, II, III e IV. As classificações do tipo I e II, respectivamente possuem hábito de crescimento determinado e indeterminado, apresentando porte ereto, arbustivo e ramificação fechada. Já as classificações do tipo III e IV, possuem hábito de crescimento indeterminado, porém, a terceira (III) apresenta ramificação do tipo aberta, e a quarta (IV) é do tipo prostrado ou trepador (VILHORDO, 1991; ARRUDA, 2007).

O cultivo de feijão, apresenta grande importância mundial, em razão, de constituir uma fonte principal de proteína vegetal, fornecendo fibras, carboidratos, vitaminas e micronutrientes, ocasionando uma segurança alimentar e nutricional entre os consumidores menos abastados (BEEBE et al., 2013). Já em termos de produção, o cultivo de feijão apresenta destaque na economia brasileira, de modo, que o Brasil é responsável por aproximadamente 20% da produção mundial e situado como o terceiro maior produtor mundial. De acordo com levantamentos da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2020), estima-se que a produção total de feijão em 2020/21 (considerando todas as safras e grupos) foi de 3,04 milhões de toneladas com uma produtividade média de 1.041 kg/há, apresentando uma queda de 4% sobre a média do ano da safra anterior. Dentre os fatores responsáveis por essa queda na produtividade, podem ser elucidados os principais fatores abióticos que afetam o rendimento da cultura: a baixa fertilidade do solo, a seca e as altas temperaturas (ASSEFA et al., 2014).

Entretanto, apesar de diversos fatores que limitam o rendimento agrícola, a seca é o maior entrave na produção agrícola, em países desenvolvidos e subdesenvolvidos (HEINEMANN et al., 2017). Os problemas de ambiente, principalmente os estresses hídricos, acabam tendendo a ser potencializados com as alterações climáticas, de maneira, que esses fatores ocorrem de

forma imprevisível, e mudando a cada ano e região (ASSEFA et al., 2015). Dessa forma, a deficiência hídrica, acaba sendo a principal causa da redução na produção do feijão no mundo, pois, comparada com outras culturas, é uma espécie bastante sensível à seca, principalmente quando ocorrer na fase reprodutiva. As principais perdas, que ocorrem com os efeitos do estresse hídrico é o abortamento das flores, diminuição do enchimento de grãos, número de vagens e sementes, acarretando baixo rendimento. Além do mais, também ocorrem alterações morfológicas nas plantas como o aumento de pelos radiculares, aprofundamento de raízes e enrolamento de folhas, e adaptações foliares (maior número de estômatos por área, cutícula mais espessa e menor área foliar) entre outras (BOREL, 2016).

Portanto, essa condição limitante de seca, é um dos principais focos de estudo para melhorias na produção agrícola, pois, plantas mais tolerantes a seca podem proporcionar uma maior capacidade de sobrevivência, reprodução e manutenção dos rendimentos sob estresse hídrico. No entanto, a tolerância é uma característica quantitativa complexa e de baixa herdabilidade, sendo também altamente influenciada pelo ambiente, ou seja, essa característica é advinda de outros fatores, como temperatura elevada e deficiência de nutrientes, o que acaba dificultando a seleção (ARRUDA, 2017).

## 1.2 MELHORAMENTO GENÉTICO DO FEIJÃO

O melhoramento genético de plantas é uma das ferramentas que pode atuar reduzindo o efeito de estresses abióticos sobre a produtividade (rendimento de grãos). A partir do desenvolvimento de constituições genotípicas promissoras, que superem o desempenho produtivo das cultivares que já encontradas no mercado (ZANELLA, 2016). De modo, que os estudos sobre o melhoramento do feijão obtiveram desenvolvimento em 1932, pelo Instituto Agrônomo (IAC) que realizou pesquisas com a cultura avaliando características como capacidade produtiva, porte de planta e resistência a doenças (CHIORATO; CARBONELL 2014), e assim incentivando outras instituições a desenvolverem pesquisas objetivando melhorias na cultura.

Estudos sobre o melhoramento do feijão, buscam cultivares que além de apresentar adequada produtividade, apresentem também estabilidade de produção, ou seja, que mantenha o rendimento. Apesar de que, existem cultivares que possuem parcialmente essas características, entretanto, ainda há limitações a serem superadas pela cultura. De forma, que o feijão foi domesticado em dois lugares de origem diferentes, mais precisamente na

Mesoamérica e no Andes, formando assim os dois pools gênicos principais conhecidos como Mesoamericano e Andino (KOENIG; GIOIA et al., 2013). E, portanto, apresentam características divergentes entre os grupos gênicos que aliadas podem contribuir para a elevada variabilidade genética e, a partir de diversos cruzamentos dirigidos realizados tanto dentro quanto entre grupos gênicos, pode-se explorar a diversidade e ampliar a base genética (BOREL et al., 2016). As principais características contrastantes entre os grupos são morfologia da planta, hábito de crescimento, duração de ciclo, tamanho de grão e cor de tegumento. Mais especificamente, o grupo gênico andino, abrange genótipos com formação de sementes grandes, proteína faseolina do tipo “T” e plantas com hábito de crescimento do tipo I e IV. De forma contrária, o grupo mesoamericano dispõe de genótipos com sementes pequenas, proteína do tipo “S” e crescimento do tipo II e III (POLANIA et al. 2016). Tais características divergentes, ao serem cruzadas, podem tender a um genótipo que atenda as preferências do consumidor, e com maior facilidade ao produtor.

Dessa forma, como é notável a variabilidade genética encontrada no feijão, por ser cultivado em diversos ambiente, e principalmente pela divergência entre os grupos gênicos. Atualmente, os programas de melhoramento de plantas, vem buscando minimizar os impactos do estresse hídrico, fundamentado no estudo do sistema radicular. Pois, estudos sobre o melhoramento radicular do feijão têm sido considerados uma promessa para mitigar esses estresses que acometem a cultura, além de, ser uma estratégia sustentável para agricultores baseados em cultivos com baixa entrada de nutrientes e uso limitado de água por irrigação (FESS et al., 2011). Para tanto, os grupos também são contrastantes quanto ao sistema radicular, no grupo andino, foi observado de forma mais influente sistema radicular na superfície, enquanto, no grupo mesoamericano, foi notado sistema radicular com desenvolvimento em camadas mais profundas do solo (BEEBE et al. 2013).

Sendo assim, a avaliação de características que estejam associadas à raiz (distribuição, arquitetura, comprimento, entre outras) é um fator importante. Uma vez que, a seleção de plantas com sistema radicular mais desenvolvido, ou, com características advindas de ambos os grupos podem culminar no desenvolvimento de genótipos com maior tolerância a fatores bióticos e abióticos. Pois, a identificação e seleção de genótipos com sistema radicular mais eficaz na absorção de água e elementos minerais em condições limitantes, torna-se uma alternativa para programas de melhoramento que buscam a obtenção de genótipos para condições não ideais de cultivo (ROSADO, 2012). De forma, que esta estratégia pode não se limitar à apenas um caráter, e ser considerada uma ação indireta para melhoria em outros caracteres.

### 1.3 IMPORTÂNCIA DO SISTEMA RADICULAR

O sistema radicular apresenta um papel de grande importância no crescimento e desenvolvimento das plantas em geral, fornecendo suporte para fixação em substrato sólido, e para a absorção de água e nutrientes. De forma que, para uma maior eficiência na absorção de nutrientes, nos 20cm localizados na parte superior do solo (maior concentração de nutrientes), busca-se um sistema radicular abundante e superficial. Já, para um melhor desempenho na aquisição de água, necessita-se de raízes mais profundas, e assim propiciando plantas tolerantes a seca (HO et al., 2005). Dessa forma, uma abrangente distribuição radicular pode propiciar a exploração de maior volume de solo, e condicionar melhor aquisição de água e nutrientes, favorecendo o ciclo da cultura. Porém, para a obtenção dessas características desejadas, é necessário o conhecimento das variações genéticas, para uma melhor caracterização da distribuição do sistema radicular, e assim poder escolher genótipos adaptados as condições de estresses (SILVA, 2003).

Nesse contexto, o sistema radicular do feijão encontra-se pouco desenvolvido, pois, a maior concentração de raiz está restrita a camada superficial do solo, estando aproximadamente de 0-20 centímetros, ocasionando uma alta sensibilidade a estresses hídricos na cultura (ASSEFA et al., 2014). Entretanto, devido a domesticação em grupos gênicos de forma independente, esta espécie apresenta características distintas, no qual, caracteriza uma diversidade genética considerável. Por exemplo, os genótipos de origem andina apresentam maior desenvolvimento de raízes superficiais, e os genótipos advindos do grupo mesoamericano tendem a maior profundidade (Rosado, 2012), e portanto pressupõem-se que os genótipos de origem mesoamericano são mais tolerantes ao estresse hídrico, por efeito de, profundidade de raiz (POLANIA, 2016).

Desse modo, a seleção de genótipos que apresentem características importantes como: boa distribuição radicular, maior volume de raízes, profundidade de raízes em todas as camadas do solo podem abrandar às condições imprevisíveis de cultivo (DE ALMEIDA, 2011). No entanto, o caminho para o estudo deste caráter, é oneroso, devido ser considerado complexo e, conseqüentemente ocasionado uma carência de estudos do sistema radicular. De modo que, considerando a complexidade e a carência de estudos, nota-se que a base genética das características relacionadas ao sistema radicular não se encontra inteiramente conhecida (PAEZ-GARCIA et al., 2015). No mais, os poucos estudos são focados quase que

exclusivamente em aspectos visuais (anatômicos e morfológicos) em plantas jovens. Dessa forma, o número de trabalhos utilizando raízes como estratégias para a tolerância a deficiência hídrica e maior aquisição de nutrientes, é pequeno (TRACHSEL et al., 2011), principalmente quando considerado para os demais caracteres (por exemplo, parte aérea).

Em vista disso, apesar da constatada importância das raízes como um caráter relacionado a tolerância aos principais estresses abióticos, a seleção deste caráter, principalmente, em condições de campo não tem sido rotina nos programas de melhoramento. Por razões, práticas, a maioria dos trabalhos são realizados com enfoque tipicamente em melhorias nas características relacionadas a parte aérea, mais necessariamente ao rendimento de grãos (BARILI et al., 2016). E, embora os estudos focados no rendimento terem se tornado fundamentais para o avanço da produção agrícola, atualmente para as futuras melhorias na produtividade, o estudo do sistema radicular é imprescindível. Entretanto, justifica-se que a inexpressiva quantidade de trabalhos científicos avaliando populações segregantes em campo, é em razão, da complexidade do caráter aliado ao processo laborioso de avaliação.

Dito isso, considera-se que a fenotipagem do sistema radicular, com enfoque na tolerância ao estresse hídrico é um gargalo que limita a análise genética e o melhoramento da cultura (VARSHNEY et al., 2014). Porém, estudos mais avançados poderiam proporcionar uma fenotipagem a campo de baixo custo, que permitiria aos melhoristas de plantas com recursos limitados desempenhar genótipos tolerantes as restrições ambientais. Por exemplo, o estudo mais profundo de parâmetros importantes para o caráter raiz, como o comprimento radicular ou quantidade de raízes, que permitem uma maior exploração de solo, resultando em maior ou menor absorção de nutrientes e água (BOHM, 1979). Ou, sobre interações genótipo por ambiente (GxE) que requerem fenotipagem em populações de interesse, e entre outros. Tais características, são importantes em ensaios a campo, uma vez que, os cultivos em ambiente controlado normalmente dependem de vasos que geralmente limitam o volume do solo e restringem o crescimento e o desenvolvimento das raízes (POORTER et al., 2012) o que pode ocasionar uma restrição as respostas das plantas ao estresse ambiental.

#### **1.4 MÉTODOS DE FENOTIPAGEM DE RAIZ**

A avaliação do sistema radicular é um processo importante para a descoberta de genótipos com características superiores, porém, a complexidade relatada deste caráter, levam a um grande desafio dos programas de melhoramento em selecionar genótipos em condições

de restrição hídrica (MUKAMUHIRWA et al., 2015). De maneira, que a complexidade pode estar atrelada as ramificações e formação de redes do sistema radicular, ocasionando dificuldades na observação para a avaliação, principalmente a campo, de maneira que a remoção pode acarretar perdas e danificações da estrutura (ROSADO, 2012) . Entretanto, apesar dessas dificuldades, alguns estudos relatam que a maneira mais apropriada para encontrar genótipos com sistema radicular superior é a avaliação a campo (MITTLER, 2006). Sendo que, comumente os principais estudos sobre crescimento radicular são realizados a partir da avaliação de características como: comprimento de raiz, massa seca de raiz, área explorada de raiz, volume de solo explorado de raiz entre outros. Onde, geralmente são em conjunto com os fatores do ambiente que contribuem com sua distribuição, como: densidade e porosidade do solo, água, ar, nutrientes disponíveis e pH do solo (BOHM, 1979).

As avaliações citadas, tradicionalmente são aplicadas em condições de campo, no entanto, a coleta de informações nestas condições é uma tarefa bastante árdua e é feita de diferentes formas. Na literatura encontra-se diversos métodos de avaliação, sendo eles: Método do perfil do solo ou trincheira (para a quantificação de raízes), método do Rhizotron, método do monólito ou blocos, método de escavação (por exemplo, *Shovelomics*) (BOHM, 1979). E, além dos métodos citados, devido as dificuldades encontradas sob condições de campo, existem atualmente, métodos de avaliação realizados em casa de vegetação, conhecidos como métodos de análises digitais. De modo que, encontrar referências na literatura que discorra sobre a utilização destes métodos de avaliação do sistema radicular em populações segregantes é bastante raro, uma vez que, tais métodos exigem grande quantidade de trabalho físico e são considerados bastante minuciosos (CANTÃO, 2007). Condicionando, a carência de técnicas para mensuração de características do sistema radicular, e, portanto, sendo necessário o avanço nos estudos referentes ao conhecimento dos métodos de condução, para o sucesso na seleção de populações segregantes.

O método do perfil do solo ou trincheira, é realizado em condições *in situ*, consistindo em uma abertura de trincheira ao redor da planta que será realizado a avaliação radicular, onde, posteriormente é exposto as raízes para a quantificação visual das raízes (BOHM, 1979). Outro método utilizado com frequência é o Rhizotron, de forma que as plantas se desenvolvem em um recipiente de vidro inserido no solo, podendo ser visualizado o crescimento radicular das raízes em condições *in vivo* (BRASIL, 2003). Porém, como as raízes encontram-se em uma parede de vidro, esta avaliação é mais considerada para estudos fenológicos do que em estudos de distribuição de raízes (BOHM, 1979). Por conseguinte, uma avaliação também bastante conhecida é a do método do monólito ou blocos, que se baseia na remoção de blocos de solo

com dimensões pré-definidas. Onde, seguidamente são lavadas, separadas, e medido características como peso e comprimento. Entretanto, como relatado, tanto o processo de remoção como lavagem, podem levar a perdas de até 40% de raízes, de acordo com o método aplicado (COSTA, 2002). E no mais, outros métodos utilizados, tanto em condições de campo, como em casa de vegetação, são os métodos conhecidos como *Shovelomics* (método de escavação), e o método de imagens digitais, relatados a seguir.

#### 1.4.1 MÉTODO *SHOVELOMICS*

Diversos métodos foram descritos na literatura para avaliação do sistema radicular. Entretanto, Trachsel et al. (2011) propôs uma metodologia para avaliação do sistema radicular denominada de *Shovelomics*. Este método preconiza a avaliação de plantas adultas, tornando-se uma ferramenta vantajosa para melhoristas avaliarem a variabilidade genética do sistema radicular. Uma vez que, a maioria dos métodos propostos em condições de laboratório ou casa de vegetação, realizam o processo de fenotipagem em plantas no estágio vegetativo, buscando custos mais baixos e maior rendimento. Porém, apesar dessas avaliações buscarem a medição de forma não invasiva, o tamanho do vaso limitar as raízes, sendo necessário a retirada no tempo de duas a três semanas (POORTER et al. 2012). Dessa forma, nesses períodos algumas características das raízes do feijão como número de raiz do hipocótilo e diâmetro da raiz principal, ainda não se desenvolveram totalmente (CANTÃO, 2007), e assim não obtendo um desenvolvimento esperado para análise mais profunda de características diferenciadas, como por exemplo, populações em gerações com níveis diferentes de segregação.

Em contrapartida, a fenotipagem do sistema radicular em solos reais pela metodologia *Shovelomics* (TRACHSEL et al., 2011) pode complementa as análises de laboratório, pois, permite a fenotipagem de raízes em estágio adulto, em condições reais de cultivo. Onde, em alguns trabalhos, como o realizado por Burridge (2016) encontra-se esta metodologia juntamente com a análise de imagens digitais, apresentando pontuações visuais para dez fenômenos radiculares, tornando-se uma ferramenta simples, robusta e barata para melhoristas de culturas avaliarem os sistemas radiculares e as respostas funcionais a vários ambientes. Contudo, a desvantagem do método é que apesar de ser realizado na fase adulta, o método *Shovelomics* é considerado destrutivo, em virtude da remoção da planta para a avaliação das raízes. Porém, como as análises são realizadas nas plantas adultas, o método possui a vantagem da possibilidade de outras avaliações. Como por exemplo, estudo sobre doenças, pragas, e a



variabilidade genética do sistema radicular em populações segregantes. Tornando-se um importante na avaliação de diferentes constituintes genéticos, porém, não pode ser utilizado para o aumento de herdabilidade genética.

#### 1.4.2 MÉTODO ANÁLISE DIGITAIS DE IMAGENS (WINRHIZO ®)

Com as dificuldades encontradas na fenotipagem do sistema radicular a campo, novas formas de avaliação foram surgindo, e com o uso dos computadores, a análise de imagens foi aumentado o potencial de medição de raízes, reduzindo o tempo exigido para a medida, e possibilitando a avaliação de diferentes variáveis de raiz, antes não possíveis de serem mensuradas, como o número de pontas de raízes e a área projetada de raízes (COSTA et al., 2001; CANTÃO, 2007). Dessa forma, a análise de imagens digitais transformou o estudo de sistema radicular, tornando-o menos demorado, permitindo medidas mais precisas e menos subjetivas do que características que detectadas pelo o olho humano (STUTTE, STRYJEWSKI, 1995; CANTÃO, 2007).

Dentre as análises realizadas de forma computacional, o software que mais se destaca na avaliação do sistema radicular, é o sistema WinRhizo. O processo de análise desse sistema funciona pelo método da interseção de fragmentos de raiz em uma malha de dimensões conhecidas. Onde, as raízes são distribuídas de forma aleatória em cima de um anteparo, e logo são contadas as interseções, que a partir dos valores obtidos são utilizados em uma expressão matemática, determinado o comprimento das raízes (NEWMAN, 1966; TENNANT, 1975; CANTÃO 2007). Uma das principais vantagens do sistema WinRhizo é corrigir as limitações do método da interseção, juntamente com à sua facilidade operacional (CANTÃO, 2007). Pois, este método (interseção) possui a desvantagem de assumir que as raízes estão distribuídas aleatoriamente, ou seja, se as raízes estiverem sobrepostas, o valor de comprimento pode ser sobrestimando. E assim, ocorrem erros nas estimativas quando a suposição não é atendida.

Para tanto, a partir do software WinRhizo que é um sistema de análise de imagens projetado especificamente para medição de raízes em diferentes formas (ABRAMS M. D et al 1998). Pode ser realizado a avaliação do sistema radicular pelo método de análise digitais de imagens (WinRhizo ®), onde utilizar análises de morfologia (comprimento, área, volume etc.), topologia, arquitetura e cor. E assim, com o auxílio desse programa de computador obtém-se componentes de aquisição de imagem, combinados para atender diferentes necessidades e

orçamentos. O método de análise digitais de imagens (WinRhizo ®) também é considerado destrutivo, devido a remoção da planta no período vegetativo, entretanto, uma das vantagens deste método, é a análise em larga escala, no caso de um número grande de indivíduos, e outra vantagem é a quantidade de variáveis obtidas.

## 2 IMPLICAÇÕES NA SELEÇÃO DOS MÉTODOS DE FENOTIPAGEM DE RAIZ EM POPULAÇÕES COM DISTINTOS NÍVEIS DE HETEROZIGOSE

### 2.1 INTRODUÇÃO

A cultura do feijão, pode ser afetada por condições de cultivo adversas, como por exemplo, o déficit hídrico, ocasionando um dos principais gargalos da agricultura contemporânea em países desenvolvidos e subdesenvolvidos, limitando o desenvolvimento favorável da cultura (HEINEMANN et al., 2017). A exigência hídrica desta cultura variar com os estádios alcançados, apresentando uma estimativa de consumo entre 300 a 600 mm de água ao longo do seu desenvolvimento (PAVANI et al., 2008). Logo, o feijão é bastante sensível as condições de deficiência hídrica, estando 60% da produção sujeita a estas condições em alguma etapa da cultura (ARRUDA, 2017), acarretando perdas significativas. De modo que, à medida que aumentam os dias de déficit, diminuem a produção de grãos, porém, as cultivares de feijão apresentam respostas diferentes quando submetidas a condições severas (AGUIAR, 2008).

Neste cenário, o melhoramento genético busca a seleção de plantas mais tolerantes ao estresse hídrico, a partir da escolha de genótipos com características radiculares que promovam um melhor desempenho da espécie em condições de cultivo (BURRIDGE et al., 2016). Por exemplo, genótipos com ciclo precoce, adaptação fisiológica para condutância estomática, enraizamento profundo para maior absorção de água em condições de seca, e dentre outras características relacionadas a produção de grãos como rendimento, número de vagens, massa de 100 sementes e número total de grãos (BLAIR et al., 2012). Diante disso, o estudo do sistema radicular, é considerado uma ferramenta valiosa para o melhoramento genético de plantas, podendo auxiliar na redução dos efeitos de estresse hídrico sobre a cultura do feijão, através da obtenção de genótipos com características superiores. De forma, que a fenotipagem do sistema radicular pode possibilitar a seleção de plantas com desempenho genético distinto nestas condições limitantes, e assim levar a seleção mais eficiente de populações segregantes. Posto que, poucos trabalhos têm sido realizados com o estudo de populações segregantes, fato que,

pode viabilizar a seleção de constituições genéticas com sistema radicular ajustado para condições severas.

Entretanto, o processo de avaliação deste caráter a campo não tem sido realizado de forma rotineira nos programas de melhoramento. Em razão, dos métodos de fenotipagem aplicados serem considerados trabalhosos e demorados, ocasionando as vezes, uma limitação no progresso do melhoramento genético (BURRIDGE et al., 2016). Limitações, que acabam direcionando os estudos de avaliação de raiz a ambientes de cultivo em casa de vegetação, porém, não refletindo condições reais de cultivo (MITTLER, 2006). Condições essas (campo), necessárias para a seleção de genótipos superiores, de modo que, para o conhecimento das bases genéticas envolvidas no controle deste caráter, é necessário o estudo do comportamento de populações em condições reais de cultivo, e em diferentes gerações (GRIGOLO, 2018).

Diante dessas limitações, foi proposto o estudo de métodos de fenotipagem de raiz, avaliando a eficácia destes métodos na discriminação de populações fixas e segregantes, em condições de campo e casa de vegetação. Uma vez que, resultados similares entre as avaliações podem indicar a realização do processo de fenotipagem em métodos menos onerosos, pois, não há diferenças entre as avaliações. Entretanto, no caso da consecução de resultados diferentes, pode ser selecionado o método mais preciso e eficiente, em termos de melhoramento genético. Uma vez que, a escolha do método que apresente relevância na discriminação de genótipos, é de vital importância quando se objetiva melhorias no caráter raiz. Porém, deve-se considerar que a escolha do método de fenotipagem de raiz a ser utilizado depende, entre outros, do objetivo do estudo, da facilidade na coleta dos dados e da disponibilidade de recursos (ARRUDA, 2017). Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar dois métodos de fenotipagem de raiz na discriminação genética de populações fixas e segregantes de feijão.

## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1 Constituições genotípicas

Para a realização deste estudo, foram utilizados sete genitores de grupos gênicos distintos (mesoamericano e andino), seguido de nove populações fixas e quatorze populações segregantes de feijão. Os genitores, foram formados por BAF07, IPR Uirapuru, BAF53, Carioca Mg, BAF35, BRS Embaixador e BRS Expedito (Tabela 1). As gerações fixas (F<sub>1</sub>) proveniente do cruzamento dirigido entre os genitores deram origem as populações segregantes

na geração F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>. Destas constituições genotípicas, foram conduzidas trinta populações em campo e casa de vegetação:

- i) progênies BAF07 x BRS Embaixador; BRS Expedito x Carioca Mg; Carioca Mg x BRS Expedito; IPR Uirapuru x BAF07; IPR Uirapuru x BAF35; IPR Uirapuru x BAF53; BAF35 x BAF53; BAF35 x BAF07 e BAF35 x IPR Uirapuru na geração F<sub>1</sub> (9 populações);
- ii) progênies BAF07 x BRS Embaixador; IPR Uirapuru x BAF07; IPR Uirapuru x BAF35; IPR Uirapuru x BAF53; BAF35 x BAF53; BAF35 x BAF07 e BAF35 x IPR Uirapuru na geração F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> (14 populações);
- iii) genitores BAF07, IPR Uirapuru, BAF53, Carioca Mg, BAF35, BRS Embaixador e BRS Expedito (7 populações).

De forma que, a ausência de cruzamentos compondo as gerações F<sub>2</sub> e F<sub>3</sub>, mais precisamente os cruzamentos recíprocos ‘BRS Expedito x Carioca Mg’, foi em virtude da indisponibilidade de sementes nestas gerações.

Tabela 1- Características dos genitores utilizados para a obtenção das populações fixas F<sub>1</sub> e segregantes F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> em feijão.

Genitores	Grupo gênico	Grupo comercial	Hábito de crescimento <sup>(1)</sup>
BAF07	Mesoamericano	Preto	Tipo III
IPR Uirapuru	Mesoamericano	Preto	Tipo II
BAF53	Andino	Bege	Tipo I
Carioca Mg	Mesoamericano	Bege	Tipo II
BAF35	Mesoamericano	Carioca	Tipo III
BRS Embaixador	Andino	Vermelho	Tipo I
BRS Expedito	Mesoamericano	Preto	Tipo II

<sup>(1)</sup> I: Crescimento determinado, porte ereto; II: Indeterminado com guias curtas, porte ereto; III: Indeterminado com guias longas, porte semi-ereto a prostrado.

Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

### 2.2.2 Delineamento experimental (campo) – Experimento 1

O experimento em campo foi conduzido na área experimental do Instituto de Melhoramento Genético e Molecular (IMEGEM), localizado na Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC/CAV), em dezembro da safra de 2018/19. A área encontra-se a 950 m de altitude, com clima característico cfb temperado (mesotérmico úmido e verão ameno) (KOPPEN, 1918). O solo encontrado na área foi classificado como Cambissolo Húmico Alumínio Léptico, horizonte A moderado, com textura argilosa e relevo ondulado (GRIGOLO, 2018).

O delineamento experimental utilizado foi látice simples (6x5), com duas repetições, resultando em 60 unidades experimentais. Cada unidade experimental foi constituída de três linhas de dois metros de comprimento, espaçadas entre 0,50m. As linhas externas de cada parcela apresentaram densidade de duas plantas por metro linear, e as linhas internas apresentaram densidade de 10 plantas por metro linear. A semeadura foi realizada no modelo convencional, com revolvimento do solo. Os tratos culturais utilizados foram adubação e capina manual para o controle de plantas daninhas. A adubação utilizada foi a partir da aplicação de cálcio antes da semeadura, e após, a aplicação de ureia de acordo com a necessidade da cultura.

- **Método *Shovelomics* (campo)**

A avaliação do sistema radicular a campo, foi realizada pela metodologia adaptada denominada de *Shovelomics*, proposta por Trachsel et al. (2011). Esta metodologia, consistiu na fenotipagem de raiz, quando as plantas atingiram o estágio R8 (Enchimento das vagens). Onde, foram coletadas duas plantas aleatórias entre as linhas externas de cada parcela, mediante a escavação do solo a uma distância de 25-30 cm ao redor da coroa das plantas. Após, as raízes foram cuidadosamente agitadas para remover o solo excessivo. O solo remanescente foi removido por imersão das coroas da raiz em água, contendo cerca de 5% de detergente e, enxágue com água a partir de uma mangueira de baixa pressão. Posteriormente, as raízes foram posicionadas em um gabarito para quantificação das variáveis ângulo de raiz (AR), comprimento horizontal esquerdo (CHE) e comprimento horizontal direito (CHD). Seguidamente, as raízes foram pesadas em balança quantitativa e depois iniciado o processo de secagem em estufa a aproximadamente 65° C, para a obtenção das variáveis massa fresca da raiz (MFR) e massa seca da raiz (MSR) (Figura 1).

### 2.2.3 Delineamento experimental (casa de vegetação) – Experimento 2

O experimento em casa de vegetação foi realizado nas dependências da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC/CAV). O delineamento utilizado foi blocos ao acaso com três repetições, totalizando 90 vasos distribuídos entre as bancadas. As populações foram semeadas em vasos com volume de quatro litros, contendo substrato comercial, e sem a adição de fertilizantes durante o enchimento dos vasos. Porém, foi aplicado como tratamentos culturais adubação com ureia, antes de alcançarem o estágio de avaliação. Ao atingirem o estágio V<sub>3</sub> (primeira folha trifoliolada) as raízes foram avaliadas pelo equipamento Scanner de raiz (WinRhizo ®), na Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI).

- **Método Análise digitais de imagens (WinRhizo ®)**

A fenotipagem do sistema radicular, a partir do cultivo em casa de vegetação, foi realizada pelo equipamento denominado de Scanner de raiz, quando as populações atingiram o estágio V<sub>3</sub> (primeira folha trifoliolada), em três plantas por tratamento (Figura 2). O processo de coleta, foi executado de forma cuidadosa visando a não destruição do sistema radicular, realizando o processo de limpeza, com imersão em água. Após esse processo, as raízes foram acondicionadas em recipientes contendo solução de água e 50% de etanol, para conservação do tecido radicular. Em seguida, foram armazenadas e transportadas para a avaliação em condições de laboratório. As raízes foram analisadas e quantificadas através do software WinRhizo ® (v 5.0, Regent Instruments, Quebec, Canadá), um sistema de análise de imagens (Figura 3). Este sistema, foi projetado especificamente para medição de raízes em diferentes formas, realizando análises de morfologia, topologia, arquitetura e cores (CASCON, 2005). A partir deste processo, foi obtido as variáveis: *i*) comprimento de raiz em cm (CR); *ii*) área superficial de raiz em cm<sup>2</sup> (AS); *iii*) relação comprimento/volume de raiz em cm/ cm<sup>3</sup> (C/V); *iv*) volume de raiz em cm<sup>3</sup> (VOL); e *v*) número de pontas de raiz (NPR).

#### **2.2.4 Análise Estatística**

A análise dos dados para a comparação dos métodos de fenotipagem, por meio do comportamento das constituições genóticas de feijão, em dois ambientes de cultivo (campo e casa de vegetação), foi empregada a partir de dois modelos estatísticos.

O modelo estatístico para o ensaio em campo foi:

$$y_{ijk} = \mu + r_i + b_{j(r)} + g_k + e_{ijk}$$

$y_{ijk}$ - efeito dos valores observados para as variáveis do sistema radicular do  $i$  – étimo fator repetição, no  $j$ -ésimo fator bloco, no  $k$ -ésimo fator genótipo.

$\mu$ - efeito da média geral

$r_i$ - efeito do  $i$ -ésimo nível do fator repetição

$b_{j(r)}$  - efeito do  $j$ -ésimo fator bloco dentro do efeito  $i$ -ésimo do fator repetição;

$g_k$  – efeito do  $k$ -ésimo do fator genótipo

$e_{ijk}$  - efeito do erro experimental.

O modelo estatístico do experimento em casa de vegetação foi:

$$y_{ij} = \mu + b_i + g_j + e_{ij}$$

$y_{ij}$  - valores observados para as variáveis do sistema radicular do  $i$ -ésimo fator bloco, no  $j$ -ésimo fator genótipo.

$\mu$ - efeito da média geral

$b_i$  – efeito do  $i$ -ésimo fator bloco

$g_j$ – efeito do  $j$ -ésimo fator genótipo

$e_{ij}$  - efeito do erro experimental.

Para a análise estatística, os dados foram submetidos a análise de variância a 5% de probabilidade, pelo procedimento *GLM* (Modelo Linear Geral). Onde, posteriormente, juntamente com este modelo (*GLM*), também foram adotados valores de *BLUP* (melhor predição linear não-viesada) utilizando o procedimento de modelos mistos (*MIXED*).

A natureza dos modelos mistos são compostas por efeitos fixos e aleatórios, de modo que, a aplicação da análise de variância por meio desses modelos, apresenta características singulares, como por exemplo, o conhecimento da composição das esperanças matemáticas dos quadrados médios, permitindo assim, a determinação dos testes de hipóteses de forma mais precisa (HIGKS, 1973). De forma que, adotando este modelo linear misto é possível realizar a predição de efeitos fixos e aleatórios, pelos valores de *BLUPs*, bastante útil no melhoramento genético. Visto que, os *BLUPs* descritos pelos modelos mistos, atribuem predição de efeitos

aleatórios, ou seja, esses valores referem-se aos efeitos de um fator aleatório em razão das médias corrigidas ( $y$ ), para os efeitos de fatores fixos. De maneira que, as fontes de variação (efeitos aleatórios e erros) apresentam distribuição normal com média zero, e não são correlacionados, com matrizes de variância e covariância (FILHO, 2002).

Posto isto, a partir dos valores de *BLUP* foram obtidos coeficientes de correlação, utilizando o procedimento *CORR*. Este procedimento, permitiu a formação de matrizes entre e dentro dos métodos de fenotipagem *Shovelomics* e Análise digitais de imagens (WinRhizo®). As combinações para a correlação entre e dentro dos métodos, a partir das populações fixas (Pai e  $F_1$ ) e segregantes ( $F_2$  e  $F_3$ ), foram realizadas de forma individual e conjunta, seguindo a seguinte estrutura: a) Matrizes de cada método (Individual) – Pai vs  $F_1$ , Pai vs  $F_2$ , Pai vs  $F_3$ ,  $F_1$  vs  $F_2$ ,  $F_1$  vs  $F_3$ ,  $F_2$  vs  $F_3$  b) Matrizes entre os métodos (Conjunta) – Pai vs Pai,  $F_1$  vs  $F_1$ ,  $F_2$  vs  $F_2$ ,  $F_3$  vs  $F_3$ .

As matrizes foram analisadas pelo teste  $Z$  de Mantel com 1000 aleatorizações. O teste de Mantel foi proposto em 1967 para testar a associação entre duas matrizes. As matrizes são normalizadas, apresentando média igual a zero, e desvio padrão igual a um (DINIZ, 2013). As aleatorizações (permutações) que ocorrem, mostram quantas vezes o  $Z$  observado (valor de  $p$ ) foi maior ou menor que 1000 valores de  $Z$ . No entanto, ocorrendo mudanças apenas nos valores de probabilidade, mantendo as médias e as variância constantes, e assim não interferindo na estandardização do  $Z$  para a correlação entre as matrizes.

As análises estatísticas citadas foram realizadas a partir do auxílio do software estatístico SAS University (CODY, 2015).

### 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados inseridos na Tabela 2, apontam um resumo da análise de variação para os métodos de fenotipagem, comparados para todas as variáveis consideradas. De modo que, analisando esta tabela pode ser observado diferenças, quanto a significância dos quadrados médios, dentre os métodos *Shovelomics* e Análise digitais de imagens (WinRhizo®) na caracterização dos genótipos.

No entanto, apenas a análise de variação não fundamenta a hipótese de similaridade entre os métodos de fenotipagem. Em razão, das diferenças de efeitos dos métodos de fenotipagem se confundirem com as diferenças entre as características estranhas. Características essas, que



são representadas pelos conjuntos que formam as demais características das amostras, ou seja, são características relacionadas ao ambiente, técnicas de cultivo, forma de manejo, mensuração de dados e dentre outras. De forma resumida, são todas as características referentes a planta ou amostra, excetuando-se das características respostas e explanatórias, por exemplo, as variáveis respostas obtidas e os fatores de tratamento, respectivamente (SILVA, 2007). Desta forma, pode não fornecer estimativa do erro apropriado para a comparação fidedigna entre os diferentes métodos. Esse confundimento ocorre, quando características estranhas relevantes não controladas, se confundem tendenciosamente com os efeitos de condições de ambiente (SILVA, 2003). No caso deste estudo, as características estranhas, como por exemplo, ambiente, e as técnicas de mensuração, podem ter ocasionado as diferenças nas avaliações do fator qualitativo específico não estruturado (genótipos) quanto o sistema radicular, não sendo ocasionadas pelos efeitos dos métodos de fenotipagem.

Corroborando com o elucidado, entende-se que as diferenças na discriminação dos genótipos entre os métodos, podem ter sido em razão das diferenças entre as características consideradas relevantes, em cada método. Sendo elas, as condições de cultivo diferenciadas (casa de vegetação e campo), estágio de avaliação ( $R_8$  e  $V_3$ ), mensuração dos dados e dentre outras. Estas características, caracterizadas anteriormente como estranhas, podem ter influenciado nas diferenças dos efeitos dos métodos de fenotipagem, e assim ocasionando confundimento. Ou seja, não pode ser indicado se os resultados encontrados pela análise de variação, são devidas as diferenças entre essas características estranhas, ou, se realmente existe diferença na discriminação de genótipos entre as metodologias.

Entretanto, apesar dessas diferenças citadas, a utilização de delineamentos experimentais diferentes (*Shovelomics*: látice simples e; Análise digitais de imagens: blocos completos casualizados) se constituiu também numa limitação deste trabalho na forma apresentada. Porém, essa dificuldade é comumente encontrada em vários trabalhos científicos publicados. Pois, a escolha do modelo utilizado, apresenta consequências importantes para a estimativa de componentes da variância e teste de hipóteses (BUENO; VENCOSKY, 2000). De forma que, os experimentos foram realizados em condições experimentais distintas (*Shovelomics* a campo e; Análise digitais de imagens em laboratório).

Analisando ainda a Tabela 2, pode ser observado que o fator genótipo, para o *Shovelomics* não revelou significância em todos os caracteres mensurados. De modo contrário, o método de Análise digitais de imagens (WinRhizo<sup>®</sup>) apresentou significância para o fator genótipo para todas as variáveis medidas. Considerando de forma habitual, o pesquisador poderia ser induzido a selecionar o método que de fato discriminar os genótipos, pela estatística *F*. No entanto, essas

diferenças não podem ser consideradas válidas, pois, apesar das constituições genéticas usadas tanto no método do *Shovelomics* quanto na Análise digitais de imagens (WinRhizo ®) terem sido as mesmas, as variáveis mensuradas não se repetiram entre os diferentes métodos avaliados. Ou seja, a principal limitação para a comparação fidedigna entre as metodologias, além das relatadas, é ausência de variável resposta comum, ou seja, nas mesmas unidades de medidas.

De forma apenas didática, pode ser transformado o látice em blocos completamente casualizados reunindo as fontes de variação: repetições, repetições (blocos) e o erro experimental. Como no caso do estudo realizado por Bueno e Vencovsky (2000), onde para obter a estrutura de um látice, foi considerado as repetições como blocos casualizados completos e, apontada como uma alternativa usual, nos experimentos. O que de fato, ao ser aplicado neste estudo, seria obtido o mesmo número de graus de liberdade do erro para o delineamento blocos completamente casualizados (Graus de liberdade=58). Apesar disso, estes valores não coincidem em virtude de que o método de fenotipagem *Shovelomics* foi conduzido com 60 unidades experimentais (uma unidade experimental foi perdida) enquanto o método de Análise digitais de imagens (WinRhizo ®) teve 90 unidades experimentais. Mas, se o método *Shovelomics* tivesse sido conduzido com três repetições, com mesmo número de blocos e 30 genótipos, os valores dos graus de liberdade seriam exatamente os mesmos. De forma a esclarecer, pode ser observado que o delineamento de látice, para o *Shovelomics*, quando somados os quadrados médios das fontes controladas (repetição, repetição(bloco) e o erro), independente da variável medida, sempre mostrou valores superiores comparativamente ao fator genótipo. Ou seja, se no método *Shovelomics* não foi possível detectar significância para o fator genótipo, por meio do delineamento de látice, considerado mais preciso, não seria encontrado significância estatística, se este método de fenotipagem tivesse sido conduzido sob o delineamento de blocos casualizados.

Dito isto, apesar da possibilidade de transformação da estrutura dos delineamentos, utilizados nos ensaios de campo, nota-se que este processo pode não prover uma estimativa fidedigna para o erro, e pode perder precisão comparativamente. Já que, desconsidera a formação de blocos dentro das repetições, e considera as repetições como blocos completos. Situação está comumente encontrada na literatura e, portanto, rigorosamente não é indicada a conversão da estrutura do modelo estatístico em virtude das restrições impostas na aleatorização dos tratamentos. Para tanto, analisando alguns estudos, os resultados encontrados apontaram que ao realizar um experimento na estrutura de látice, visando estimar parâmetros genéticos,

deve se considerar a estrutura do látice como blocos incompletos, independentemente de sua eficiência, e não como blocos completos casualizados (CECON, 1992).

Em razão dos levantamentos apontados no decorrer do estudo, que levam as dificuldades de comparação entre os métodos de fenotipagem (Tabela 2). Tal condição, denota que, por terem sido realizados em circunstâncias diferentes, o método *Shovelomics* não deve ser comparado com o método de Análise digitais de imagens (WinRhizo®), por meio apenas da análise de variação comumente aplicada. E, portanto, necessária a realização de análises, que visem a avaliação individual entre as metodologias de fenotipagem e, posteriormente, possibilite a comparação conjunta, de forma que, não viole as pressuposições do modelo estatístico, priorizando a informação genética contida nas diferentes populações consideradas.

Tabela 2- Resumo da análise de variação para as variáveis determinadas: ângulo de raiz (AR), comprimento horizontal esquerdo (CHE), comprimento horizontal direito (CHD), massa fresca da raiz (MFR), massa seca da raiz (MSR), comprimento de raiz (CR), área superficial (AS), comprimento/volume (C/V), volume de raiz (VOL) e número de pontas de raiz (NPR), considerando os valores de quadrado médios e graus de liberdade (GL) nos diferentes métodos de fenotipagem.

	Fonte de variação	GL	Caracteres				
			AR	CHE	CHD	MFR	MSR
SHOVELOMICS	Repetição	1	326.69	5.03	31.00	37.74	7.11
	Repetição (Bloco)	10	90.12	8.86	41.02	3.98	0.47
	Genótipo	29	164.56	21.97	20.23	5.27	0.98
	Erro	18	139.42	21.95	17.19	3.10	0.68
	Média		43.68	9.78	10.23	5.33	1.85
	C.V (%)		27.02	47.91	40.50	33.02	44.72
			CR	AS	C/V	VOL	NPR
ANÁLISE DIGITAIS	Bloco	2	690919	4009	269890	66327	281623
	Genótipo	29	105409*	12170*	411755*	100971*	808243*
	Erro	58	444286	4540	173549	362662	318655
	Média		2320	250	1450	2128	2176
	C.V(%) <sup>1</sup>		28.72	26.95	28.72	28.29	25.93

<sup>1</sup>Coefficiente de variação

\*Significativo a 5%  $Pr > F H_0 = 0$ .

Fonte – Elaborado pela autora, 2020.

Dessa forma, analisando as populações genéticas utilizadas nas estruturas dos experimentos, formadas por genitores, populações fixas ( $F_1$ ) e segregantes ( $F_2$ ,  $F_3$ ). Constantemente, relata-se nas literaturas que a geração  $F_1$ , é a geração onde constitui-se uma manifestação da heterose. Geralmente, promovida pela presença de alelos divergentes em um mesmo loco, com decorrência do cruzamento entre indivíduos contrastantes (GRIGOLO, 2018). Levando, a uma combinação híbrida com desempenho superior aos genitores, em razão do, grande número de locos em heterozigose, ocasionado principalmente pela dominância do caráter (SHULL, 1908). Já a primeira geração segregante ( $F_2$ ), originada da autofecundação da geração  $F_1$ , é geneticamente a geração com maior variabilidade genética, caracterizando assim, a geração que pode ser iniciada a seleção de genótipos superiores, em razão, de níveis elevados de heterozigose em relação as gerações subsequentes. Em contrapartida, na geração  $F_3$ , teoricamente, espera-se que ocorra uma redução no nível de heterozigose, em relação as gerações  $F_1$  e  $F_2$ .

Em vista disso, nota-se que o conhecimento sobre os componentes que controlam um caráter é fundamental para o processo de seleção e para a predição do desempenho das gerações segregantes (CRUZ et al., 2004). Pois, em suma, as frações genéticas (variância genética aditiva e de dominância) envolvidos nas diferentes gerações segregantes e gerações fixas (que não segregam, por exemplo, genitores e  $F_1$ ) fundamentalmente tem como reflexo o incremento ou redução do valor esperado, sendo avaliado na progênie selecionada ou desconsiderada na seleção das constituições genotípicas promissoras, para os caracteres alvo da seleção. De forma que, ao analisar uma população segregante em relação aos seus genitores, pode ser apontado predominância de um ou outro componente.

Buscando obter informações com relação a natureza dos caracteres, medidos pelos métodos de fenotipagem, a partir das populações genéticas explanadas, nota-se a importância do conhecimento das correlações lineares entre as variáveis. Visto que, os coeficientes de correlação, medem o grau de associação entre duas variáveis, em detrimento da covariância, que é uma estatística que determinar a presença ou ausência de relação entre duas variáveis aleatórias, ou seja, indica a direção que o coeficiente de correlação tenderá, sendo ele positivo, negativo ou próximo de zero (GUIMARÃES, 2017). Dessa maneira, o conhecimento das correlações é importante, em razão de poder analisar o quanto a variação de uma variável pode influenciar nas demais, e assim, identificar o comportamento de populações genéticas em virtude do desempenho das variáveis em questão. Entretanto, de certo modo, são escassas

informações sobre estimativas obtidas em populações segregantes, principalmente, em casos que a dominância e a ligação gênica podem afetar a correlação (VENCOVSKY, 1986).

Em vista disso, de acordo com as estimativas de correlação linear simples, obtidas nos genitores e nas populações, pode-se obter informações que oriente na escolha do método a ser empregado nas etapas de grande importância no melhoramento de plantas, principalmente, quando o objetivo é a seleção de indivíduos superiores. De modo que, dependendo da magnitude e direção das correlações obtidas, é possível ter o conhecimento do comportamento das gerações. Como por exemplo, ao analisar as correlações entre os pares de caracteres nos genitores e filhos, e observar uma correlação positiva e significativa, pode-se dizer que as gerações apresentam o mesmo comportamento, ou seja, variam positivamente para a mesma direção. E valores negativos, indicam que as gerações estão apresentando desempenhos opostos. Complementando o elucidado, valores negativos na correlação, apontam que um caráter está sendo favorecido em relação ao outro, e valores positivos apontam que os pares de caracteres são beneficiados, pelas mesmas causas de variações de ambiente (CRUZ et al., 2004; ROCHA, 2012). E, portanto a natureza das correlações, são fatores importantes, que refletem diretamente na seleção de plantas segregantes.

Deste modo, com base no pressuposto, e visando atender o objetivo proposto, a comparação entre as metodologias pode ser realizada, se os componentes comuns das fontes de variação e as diferenças forem aleatórias, podendo assim resultar em inferências válidas, sobre os efeitos dos fatores experimentais (genótipos). E, assim obter um resultado fidedigno, em virtude, das características encontradas nas populações deste estudo. Para tanto, deve-se levar em consideração a relevância das metodologias de fenotipagem, de forma que, os métodos sejam comparados em relação aos seus valores genéticos. Por exemplo, o pesquisador não espera que os genitores fixos (cultivares, por exemplo) apresentem um desempenho superior as plantas segregantes. Uma vez que, a variabilidade genética disponível na geração segregante é essencial para orientar o melhorista, na escolha de populações segregantes com potencial superior as progênies (ROCHA, 2012). E, para tanto, a reduzida variabilidade genética em cultivares, como por exemplo o feijão, pode inviabilizar a seleção de plantas em populações fixas.

Entretanto, examinando a coerência genética na avaliação dos métodos de fenotipagem *Shovelomics* e Análise digitais de imagens (WinRhizo®), foram estimados coeficientes de correlação linear simples obtidos pela comparação de matrizes, em cada método e entre os métodos, para cada geração avaliada (Tabela 3). Uma vez que, incoerências encontradas dentre os métodos, podem apontar que o método não provê base consistente para a seleção de plantas.

Portanto, a escolha do método de fenotipagem adequado pode viabilizar a continuidade do programa de melhoramento; pois, o sucesso do programa é dependente de um melhor conhecimento dos métodos de fenotipagem empregados durante a condução das populações segregantes.

Tabela 3 - Medidas de associações entre matrizes formadas entre populações fixas e segregantes de feijão, dentro e entre os métodos de fenotipagem *Shovelomics* e Análise digitais de imagens (WinRhizo ®).

Método de Fenotipagem	Gerações	Correlação de matrizes	Probabilidade <sup>1</sup>
Shovelomics	Pai vs. F <sub>1</sub>	0.48	0.082
	Pai vs. F <sub>2</sub>	0.57	0.054
	Pai vs. F <sub>3</sub>	0.83	0.009
	F <sub>1</sub> vs. F <sub>2</sub>	0.92	0.008
	F <sub>1</sub> vs. F <sub>3</sub>	0.23	0.256
	F <sub>2</sub> vs. F <sub>3</sub>	0.27	0.236
Análise digitais de imagens	Pai vs. F <sub>1</sub>	0.93	0.019
	Pai vs. F <sub>2</sub>	0.91	0.021
	Pai vs. F <sub>3</sub>	0.78	0.043
	F <sub>1</sub> vs. F <sub>2</sub>	0.99	0.010
	F <sub>1</sub> vs. F <sub>3</sub>	0.72	0.046
	F <sub>2</sub> vs. F <sub>3</sub>	0.69	0.052
Shovelomics vs. Análise Digitais	Pai vs. Pai	-0.62	0.046
	F <sub>1</sub> vs. F <sub>1</sub>	-0.51	0.089
	F <sub>2</sub> vs. F <sub>2</sub>	-0.50	0.110
	F <sub>3</sub> vs. F <sub>3</sub>	-0.65	0.046

<sup>(1)</sup> Probabilidade da estatística  $\Pr\{|Z| > |Z_0| \mid H_0 = 0\}$ .  
 Fonte – Elaborado pela autora, 2020.

As estimativas dos coeficientes de correlação linear simples, obtidas por meio de matrizes formadas por diferentes populações avaliadas em cinco caracteres para distribuição radicular, no método *Shovelomics*, aplicado na cultura do feijão estão apresentados na Tabela 3.

Analisando, esta tabela, pode ser notado que todas as comparações realizadas revelaram um coeficiente de correlação positiva e significativa, exceto para as gerações formadas por  $F_1$  vs  $F_3$  e  $F_2$  vs  $F_3$ . As estimativas dos coeficientes de correlação positivos e significativos, indicam que as matrizes comparadas, apresentam variação no mesmo sentido, e portanto, as populações revelam comportamento similar geneticamente. De forma didática, deve ser notado que, a medida que os coeficientes de correlação, apontam uma estimativa de valor próximo a unidade ( $r=1$ ), incrementa a probabilidade de rejeitar a hipótese de que este valor estimado, seja significativamente diferente de zero ( $H_0: r=0$ ).

De modo que, com base nessas informações, foi observado que as gerações avaliadas pelo método *Shovelomics*, apresentaram correlações significativas ( $r=1$ ) na maioria das matrizes comparadas, revelando similaridade genética, mesmo em gerações que não se espera que tal fato aconteça. No entanto, quando comparado as gerações fixas x segregantes, deve ser esperado um desempenho genético distinto (Tabela 3). Por exemplo, ao analisar a matriz das gerações formadas pelas matrizes Pai vs  $F_1$ , pode ser observado coeficiente de correlação significativo pela estatística Z ( $r=0,48$ ). Este resultado encontrado reforça a coerência na comparação entre gerações fixas. Por outro lado, analisando as gerações formadas pelas matrizes Pai vs  $F_2$ , foi observado coeficiente de correlação significativo pela estatística Z ( $r=0,57$ ). De forma que, este resultado aponta incoerência do método na comparação de gerações fixas x segregantes.

As correlações significativas ( $r=0,48$ ), entre as matrizes das gerações fixas (Pai vs  $F_1$ ), pode ser resultante, das características semelhantes encontradas entre as matrizes das constituições genéticas dos genitores e das populações fixas (Pai vs  $F_1$ ). De modo que, os genitores fixos, apresentam locos em homozigose, e as gerações fixas ( $F_1$ ) são compostas por locos em heterozigose, que em ambos não segregam, ou seja, são gerações que não apresentam a variabilidade necessária, para a seleção de característica de interesse. Já os resultados obtidos entre as matrizes das gerações ( $r=0,57$ ) formadas por genitores x populações segregantes (Pai vs  $F_2$ ), apontam incoerência na avaliação, em razão de, ser esperado diferenças de desempenho das gerações segregantes em relação aos genitores. Como no caso da geração  $F_2$ , que é considerada como a primeira geração segregante, e geneticamente, com maior variabilidade genética. Devido, esta geração ( $F_2$ ) apresentar diferentes classes genotípicas, dominantes e recessivas, que levam ao aumento da possibilidade de seleção de indivíduos distintos geneticamente (BERTAN, 2015).

Já nas correlações não significativas entre as gerações avaliadas pelo método *Shovelomics*, nota-se que, foram encontrados coeficientes de correlação próximos de zero ( $r=0$ )

entre as matrizes formadas pelas gerações  $F_1$  vs  $F_3$  e  $F_2$  vs  $F_3$  (Tabela 3). Apontando ausência de associação entre as matrizes. No entanto, a baixa associação entre essas gerações deve ser esperada, pois, são constituições genéticas que possuem desempenhos contrastantes. Como por exemplo, as gerações  $F_2$  apresentam níveis elevados de heterozigose, em relação a geração  $F_3$ , demonstrando assim, que existe diferenças entre os valores genéticos das gerações avaliadas. De modo que, no melhoramento genético de plantas autogámas, espera-se que as populações com elevado nível de heterozigose revelem diferenças genéticas que pode viabilizar a seleção de plantas pelo melhorista (GINKEL; ORTIZ, 2018). Portanto, os resultados encontrados de correlações significativas ( $r=1$ ) em gerações fixas, e correlações não significativas ( $r=0$ ) em populações segregantes, caracterizar a eficiência do método *Shovelomics*, na discriminação de populações fixas x segregantes.

No entanto, analisando as matrizes das gerações formadas por Pai vs  $F_3$  e  $F_1$  vs  $F_2$ , pode ser notado que houve similaridade de desempenho entre estas gerações, apresentando coeficientes de correlação significativos ( $r=0,83$ ;  $0,92$  respectivamente). De maneira que, espera-se que nestas gerações sejam encontrados desempenhos diferenciados entre as populações, por serem consideradas gerações com diferentes níveis de heterozigose. Como por exemplo, a geração  $F_3$ , geneticamente, deve apresentar superioridade em relação aos genitores. Portanto, ao apresentar valores de coeficientes altos ( $r=1$ ) em gerações com desempenho genotípico diferentes, a avaliação pelo método *Shovelomics* não apresentou coerência ao caracterizar as gerações avaliadas (Pai vs  $F_3$  e  $F_1$  vs  $F_2$ ) quanto ao seu valor genético. De modo que, as similaridades encontradas nestas gerações não apresentaram importância genética para a seleção, pois, a ausência de variabilidade, restringem a possibilidade da obtenção de progresso pelo melhoramento de plantas.

Analisando o método de fenotipagem Análise digitais de imagens (WinRhizo®), foi observado que todas as combinações avaliadas apresentaram coeficientes de correlação, positivos e significativos entre as matrizes, independentemente das gerações avaliadas (Tabela 3). De modo que, como relatado, os coeficientes de correlação positivos e significativos, apontam que houve uma similaridade de comportamento entre as gerações fixas x segregantes, em razão da variáveis medidas apresentarem o mesmo sentido de covariação. De modo que, corroborando com o que foi dito anteriormente, nota-se que também na avaliação pelo método de Análise digitais de imagens (WinRhizo®), conforme os coeficientes de correlação apresentam valores próximos a unidade ( $r=1$ ) entre as variáveis, significativamente é diferente de zero, este fato ocorreu por que médias estimadas pelas diferentes variáveis medidas foram similares. Por exemplo, analisando as matrizes das gerações formadas por Pai vs  $F_1$ , observa-



se que houve similaridade de desempenho nas gerações, avaliadas pelo método de Análise digitais de imagens (WinRhizo ®), apresentando valores significativos de coeficientes de correlação ( $r= 0,93$ ). Indicando que estas gerações se encontram altamente associadas, pois, quanto mais próximos de um ( $r=1$ ) os coeficientes de correlação, maior é a associação (Tabela 3). De maneira que, o método apresentou coerência na caracterização das gerações fixas, em virtude, dos valores dos coeficientes de correlação entre as matrizes avaliadas, serem equivalentes.

Entretanto, além da similaridade entre as gerações fixas (Pai vs  $F_1$ ), foi observado que houve desempenho semelhante entre todas as gerações avaliadas, principalmente entre as gerações segregantes. Demonstrando que ao realizar a avaliação pelo método de Análise digitais de imagens (WinRhizo ®), todas as gerações apresentam o mesmo desempenho, pois, independente da geração avaliada, o valor genético é o mesmo. E, portanto, poderia ser considerado a seleção em populações iniciais, ou seja, sem a necessidade de selecionar plantas apenas em gerações avançadas (por exemplo, em  $F_6$ ), o que demandaria menos tempo e resultados mais rápidos para os programas de melhoramento de plantas sem amparo genético nenhum.

Não obstante, há controvérsias, pois, as constituições genéticas avaliadas, apresentam valor genético distinto, visto que, ao analisar populações com diferentes classes genotípicas, espera-se encontrar valores condizente com a genética das populações. Por isto, apesar do método de Análise digitais de imagens (WinRhizo ®), apontar similaridade em gerações fixas (Pai vs  $F_1$ ), as demais gerações segregantes, deveriam apresentar diferenças de comportamento, de modo que, estas populações apresentam variações genéticas do tipo aditiva e dominante. E no mais, outra questão, que apresenta incoerência na avaliação pelo método de Análise digitais de imagens (WinRhizo ®), é a indução da seleção em gerações iniciais, pois, nota-se que tanto os valores genéticos em populações fixas x segregantes são iguais, e portanto, pressupõem-se que não é necessário o avanço de gerações, com o objetivo de obter indivíduos superiores. No entanto, na seleção de plantas, a variabilidade genética encontrada em cada geração, compõem um fator importante, para a seleção de genótipos com características superiores.

Demonstrando a incoerência do método na caracterização de populações segregantes, levando assim, a importância da escolha do método de fenotipagem adequado, considerando o objetivo a ser alcançado pelo melhoramento de plantas, ou seja, a seleção de métodos para a escolha de genitores fixos, ou, a seleção de métodos para a caracterização de populações segregantes, considerando o valor genético da geração. Entretanto, pode ser considerado que as similaridades entre todas as gerações avaliadas, principalmente, entre as populações

segregantes. É, em razão, da forma de cultivo empregada em casa de vegetação (vasos), podendo ter ocorrido limitação do crescimento da raiz, e assim não ocasionado diferenças entre as populações. Apesar de que, visando minimizar esta problemática, foi realizado as avaliações em cada método em estádios diferenciados, porém, novos estudos podem ser realizados visando a análise de possíveis limitações de acordo com os estádios fenológicos.

De forma geral, e comparando os resultados dos coeficientes de correlação encontrados entre os métodos *Shovelomics* e Análise digitais de imagens (WinRhizo ®), pode ser considerado que os valores de matrizes que apontam similaridade entre as gerações. Indicam que as metodologias podem não está encontrando diferenças entre as gerações, e de fato, as populações estão apresentando comportamento genético similar nestas condições avaliadas. Porém, esses valores encontrados de similaridade entre as gerações, também podem indicar uma baixa relevância do método na discriminação de populações segregantes, visto que, essas gerações, teoricamente, devem apresentar variabilidade genética. Em vista disso, apesar do método *Shovelomics* apresentar valores significativos ( $r=1$ ) de correlação em populações com desempenhos distintos, este método também apontou valores coerentes com a constituição genética das gerações, por exemplo, na correlação entre as matrizes dos grupos Pai vs F<sub>1</sub> e F<sub>1</sub> vs F<sub>3</sub> e F<sub>2</sub> vs F<sub>3</sub>. Caracterizando a eficiência do método em discriminar populações fixas x segregantes. Em contrapartida o método de Análise digitais de imagens (WinRhizo ®), apresentou coerência apenas na caracterização de populações fixas (Pai vs F<sub>1</sub>), e apontando incoerência na identificação dos valores genéticos entre todas as gerações segregantes. De modo que, a identificação de variabilidade genética em populações segregantes, caracteriza a efetividade da metodologia utilizada, pois, a presença de variação genética possibilita a probabilidade de sucesso de seleção de genótipos superiores (FERREIRA, 2018).

As diferenças entre os métodos de fenotipagem *Shovelomics* e Análise digitais de imagens (WinRhizo ®), na discriminação de genótipos é relevante. Dessa forma, foi aplicado coeficientes de correlação entre matrizes dos grupos avaliados pelo método *Shovelomics* e Análise digitais de imagens (WinRhizo ®), comparativamente (Tabela 3). De forma que, possa ser identificado qual dos métodos está avaliando o valor genético das gerações formadas, e indicar o mais relevante para a seleção nas etapas do melhoramento de plantas. Portanto, analisando os coeficientes de correlação das matrizes das gerações avaliadas entre as variáveis medidas dos pelo método *Shovelomics* e Análise digitais de imagens (WinRhizo ®), foi observado que todas as gerações apresentaram coeficientes de correlação negativos e significativos. Por exemplo, na comparação entre os métodos na geração F<sub>3</sub> o coeficiente de correlação linear simples reflete uma associação negativa e significativa ( $r=-0.6$ ), indicando que

em cada método, as variáveis estão apresentando variações opostas, e, portanto, as populações estão apresentando desempenhos distintos, de acordo com a metodologia aplicada.

De forma que, enquanto um método apresenta valores distribuídos em uma direção, o outro método obtém valores distribuídos no lado oposto. Esses coeficientes de correlação negativos, podem ser determinados através da covariância, que é uma estatística que mede o grau de associação linear entre duas variáveis aleatórias, ou seja, como essas variáveis variam de forma conjunta (GUIMARÃES, 2017). Geralmente, os coeficientes de correlação negativos indicam que os valores positivos de covariância de uma geração, são negativos para a outra geração.

Dessa maneira, analisando de forma comparativa, por meio dos coeficientes de correlação entre as matrizes avaliadas em cada método e entre os métodos, pode ser concluído que estes valores medidos e encontrados pelo método de Análise digitais de imagens (WinRhizo ®), podem ser valores relacionados a variação ambiental, e não as características genéticas das gerações avaliadas. No entanto, o método *Shovelomics* apesar de apresentar valores inconstantes entre os grupos, aponta resultados fidedignos e de acordo com as diferentes gerações avaliadas. Sendo assim, pode considerar que o método de Análise digitais de imagens (WinRhizo ®), não está medindo o valor genético das gerações, dentre as variáveis avaliadas, e portanto, não existe uma consistência na teoria genética que o melhorista possa se embasar para fazer a seleção. Fato este, indica a importância da seleção do método apropriado para que o pesquisador diferencie as plantas segregantes pela sua superioridade genética e não pelo efeito ambiente

## 2.4 CONCLUSÃO

Os métodos de fenotipagem de raiz *Shovelomics* e Análise digitais de imagens (WinRhizo ®), ao serem correlacionados comparativamente, foram divergentes na discriminação de constituições genotípicas. O método de Análise digitais de imagens (WinRhizo ®), pode ser indicado para a escolha de genitores em avaliações de larga escala, porém, o método não apresentou diferenças na discriminação de gerações segregantes. De modo que, o método *Shovelomics* deve ser o escolhido para caracterização de populações segregantes de feijão.

### 3 REFERÊNCIAS

ABRAMS M. D., C. M. Ruffner & T. A. Morgan. 1998. Tree-Ring Responses to Drought Across Species and Contrasting Sites in the Ridge and Valley of Central Pennsylvania. **Forest Science**, Vol. 44, No. 4, pp. 550-558.

AGUIAR, R. et al. Avaliação de linhagens promissoras de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) tolerantes ao déficit hídrico. **Semina: ciências agrárias**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 1-14, 2008.

ARRUDA, I.M. **Fenotipagem e análise dialélica em feijão para a tolerância ao déficit hídrico**. 2017. 75 p. Dissertação (Mestrado). Universidade estadual de Londrina. Londrina, 2017.

ASSEFA, T et al. Improving adaptation to drought stress in small red common bean: phenotypic differences and predicted genotypic effects on grain yield, yield components and harvest index. **Euphytica**, v. 203, n. 3, p. 477-489, 2015.

ASSEFA, T. et al. Improving adaptation to drought stress in small red common bean: phenotypic differences and predicted genotypic effects on grain yield, yield components and harvest index. *Euphytica*, Wageningen, v. 203, n. 3, p. 477–489, jun. 2014.

BARILI LD, VALE NM, MOURA LM, PAULA RG, SILVA FFE, CARNEIRO JES. (2016).

BEEBE, S.E. et al Phenotyping common beans for adaptation to drought. *Frontiers in Physiology*, Lausana v. 4, p. 1-20, 2013.

BERTAN, I. et al. Efeitos da heterose e endogamia em caracteres de importância agrônômica em trigo. **Ceres**, v. 56, n. 6, 2015.

BLAIR, M.W., et al. Development of a mesoamerican intra-geneapool genetic map for quantitative trait loci detection in a drought tolerant vs. susceptible common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cross. **Molecular breeding: new strategies in plant improvement**, SL, v. 29, p. 71-88, 2012

BOHM, W. **Methods of studying root systems**. Springer, Berlin, 1979.

BOREL, J.C., et al. Epistasis in intra- and inter-gene pool crosses of the common bean. *Genetics and Molecular Research*, Ribeirão Preto, v. 15, n. 1, p. 1-10, fev. 2016.

BRASIL, E.C. **Mecanismos envolvidos na eficiência de aquisição de fósforo em genótipos de milho**. 2003. 161 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, MG. 2003.

BUENO-FILHO, J.S.S.; VENCOVSKY, R. Alternativas de análise de ensaios em látice no melhoramento vegetal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 2, p. 259-269, 2000.

BURRIDGE, J et al. Legume shovelomics: high-throughput phenotyping of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and cowpea (*Vigna unguiculata* subsp. *unguiculata*) root architecture in the field. **Field Crops Research**, v. 192, p. 21-32, 2016.

CANTÃO, F.R.O. **Marcadores Morfológicos de raiz em genótipos de milho contrastantes para a tolerância à seca em resposta a estresses de fósforo e alumínio**. 108 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras. Minas Gerais, 2007.

CASCONI I et al. A interação estável entre a integrina  $\beta 1$  e o receptor da tirosina quinase Tie2 regula a resposta das células endoteliais ao Ang-1 . **O Journal of Cell Biology**, vol. 170, nº 6. p. 993-1004, 2005.

CECON, P.R. **Alternativas de análise de experimentos em látice e aplicações no melhoramento vegetal**. 1992. 109 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1992.

CHIORATO, A.F.; CARBONELL, S.A.M. O melhoramento genético de feijoeiro no Instituto Agrônomo IAC (1932 a 2014). *O Agrônomo*, Campinas, v. 64-66, p. 6-13, 2014.

CODY, R. **An introduction to SAS university edition**. SAS Institute. 2015.

CONAB. Companhia nacional de abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira grãos**. ISSN: 2318-6852. V. 8 - SAFRA 2020/21 - N. 7 - Oitavo levantamento. Agosto, 2020.

COSTA, C.; DWYER, L.M.; HAMEL, C.; MUAMBA, D. F.; WANG, X.L.; NANTAIS,L.; SMITH, D.L. Root contrast enhancement for measurement with optical scanner-based image analysis. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 79, n. 1, p. 23-29, Jan. 2001.

COSTA, C.; DWYER,L.M.; ZHOU,X.; DUTILLEUL, P.; HAMEL, C.; REID, L.M.; SMITH,D.L. Root Morphology of contrasting Maize Genotypes. **Agronomy Journal**, Madison, v. 94, n. 1, p. 96-101, Jan/Feb. 2002.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. de S. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. 3. ed. v. 1, Viçosa: UFV. 480p, 2004.

DE ALMEIDA, C. B. de. **Distribuição radicular e tempo de cocção em populações mutantes de feijão**. 2011. 48 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) –Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2011.

DINIZ-FILHO, J.A.F. et al. Mantel test in population genetics. **Genetics and molecular biology**, v. 36, n. 4, p. 475-485, 2013.

FERREIRA, A. et al. **Caracterização química de grãos de feijão comum: crioulos e comerciais**. 2018. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo.

FESS, T. L et al. Crop breeding for low input agriculture: a sustainable response to feed a growing world population. **Sustainability**, v. 3, n. 10, p. 1742-1772, 2011.

FILHO, J. A. C. **Modelos lineares mistos: estruturas de matrizes de variâncias e covariâncias e seleção de modelos**. 2002. 96 p.Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo. 2002.

GINKEL, M.; ORTIZ, R. Cross the best with the best, and select the best: HELP in breeding selfing crops. **Crop Science**, Madison, v. 58, n. 1, p. 17-30, abr. 2018.

GIOIA T. et al. Evidence for Introduction Bottleneck and Extensive Inter-Gene Pool (Mesoamerica x Andes) Hybridization in the European Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Germplasm. PLoS ONE, San Francisco, v. 8, n. 10, p. 1-14, out. 2013.

GRIGOLO, S. **Heterose no caráter distribuição radicular em feijão**. 2018. 54 p. Tese (Doutorado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, 2018.

GUIMARÃES, P.R.B. **Análise de Correlação e medidas de associação**. Universidade Federal do Paraná. Disponível em:< <https://docs.ufpr.br/~jomarc/correlacao.pdf>>. Acesso em: 20/04/20. 2017.

HEINEMANN, A.B et al. Déficit Hídrico nas Áreas de Produção do Feijão das Águas e da Seca em Goiás. **Boletim técnico**. Acesso em: 26/03/20. 2017.

HIGKS, C. R. Fundamental Concepts in the Design of Experiments, ; Holt, Rinehard and Winston. **Inc., New York**, v. 349, 1973.

HO, M. D. et al. Root architectural tradeoffs for water and phosphorus acquisition. **Functional Plant Biology**, v. 32, n. 8, p. 737–748, 2005.

KOENIG, R.; GEPTS, P. Allozyme diversity in wild *Phaseolus vulgaris*: further evidence for two major centers of genetic diversity. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 78, n. 6, p. 809–817, dez. 1989.

KOPPEN, W. Klassifikation der Klimatenachtemperatur, niederschlag und jahreslauf. Petermanns Geographische Mitteilunger, **Gotha**, v. 64, 1918.

MITTLER, R. Abiotic stress, the field environment and stress combination. **Trends in Plant Science**, v. 11, n. 1, p. 15–19, 2006.

MUKAMUHIRWA, F. et al. Inheritance of high iron and zinc concentration in selected bean varieties. **Euphytica**, Wageningen, v. 205, p. 349-360, jan. 2015.

NEWMAN, E.I. A method of estimating the total length of root in a simple. *Journal of Applied Ecology*, Oxford, v. 3, n. 1, p. 139-145, 1966.

PAEZ-GARCIA, A., et al. Root traits and phenotyping strategies for plant improvement. **Plants**, [S.I.] v. 4, n. 2, p. 334-355, jun. 2015.

PAVANI, L.C.; LOPES, A.S.; GALBEIRO, R.B. Manejo da irrigação na cultura do feijoeiro em sistemas plantio direto e convencional. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, SP, v. 28, n.1, p. 12-21, 2008.

POLANIA J, Rao IM, Cajiao C, Rivera M, Raatz B, Beebe S (2016) Physiological traits 445 associated with drought resistance in Andean and Mesoamerican genotypes of common 446 bean (*Phaseolus vulgaris* L). *Euphytica* 210:17-2.

POLANIA, J. et al. Estimation of phenotypic variability in symbiotic nitrogen fixation ability of common bean under drought stress using <sup>15</sup>N natural abundance in grain. *European Journal of Agronomy*, [S.I.] v. 79, p. 66-73, set. 2016.

POORTER, H., BUHLER, J., VAN DUSSCHOTEN, D., CLIMENT, J., POSTMA, J.A., 2012. Pot size matters: a meta-analysis of the effects of rooting volume on plant growth. *Funct. Plant Biol.* 39, 839–850, 2012.

ROCHA, G.S. **Causas da correlação entre caracteres e efeito de ambientes na predição do potencial de populações segregantes no melhoramento do feijoeiro.** 2012. 80 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, 2012.

ROSADO, R.D.S. **Caracterização do sistema radical do feijoeiro e seu uso no melhoramento genético.** 2012. 92 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG.

SHULL, G.H. The composition of a field of maize. **Journal Heredity**, Cary, v.4, p.296-301, jan.1908.



SILVA, A.C. **Variações genéticas em candeia [*Eremanthus erythropapus* (DC.) Maclush]: simbiose e desenvolvimento radicular e estabelecimento inicial em áreas degradadas.** 2003. 133p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, MG. 2003.

SILVA, J.G.C. **Análise estatística de experimentos.** Pelotas, 2003.

SILVA, J.G.C. **Estatística experimental: planejamentos de experimentos.** Versão preliminar. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2007.

TENNANT, D. A test of modified line intersect method of estimating root length. *Journal Ecology*, Oxford, v, 63, n. 3, p. 995-1001, 1975.

TRACHSEL, S et al. Shovelomics: high throughput phenotyping of maize (*Zea mays* L.) root architecture in the field, 2011. **Plant Soil**, Crawley, v. 341, n. 1, p. 75-87, 2011.

VARSHNEY, R.K., TERAUCHI, R., MCCOUCH, S.R., 2014. Harvesting the promising fruits of genomics: applying genome sequencing technologies to crop breeding. **PLoS Biol.** 12, 2014.

VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNINANI, E.; VIEGAS, G. P. (Ed.). **Melhoramento e produção de milho.** 2. ed. Campinas: Fundação Cargill. p. 1937-209, 1986.

VILHORDO, B.W.; MULLER, L. **Correlação entre caracterização botânica e classificação comercial em cultivares de feijão (*Phaseolus Vulgaris* L).** 8. ed. Porto Alegre: IPAGRO, 1981, 62 p.

ZANELLA, G.L. **Sistema radicular no melhoramento genético do feijão.** Dissertação (Mestrado). Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages. 2016.

## APÊNDICE

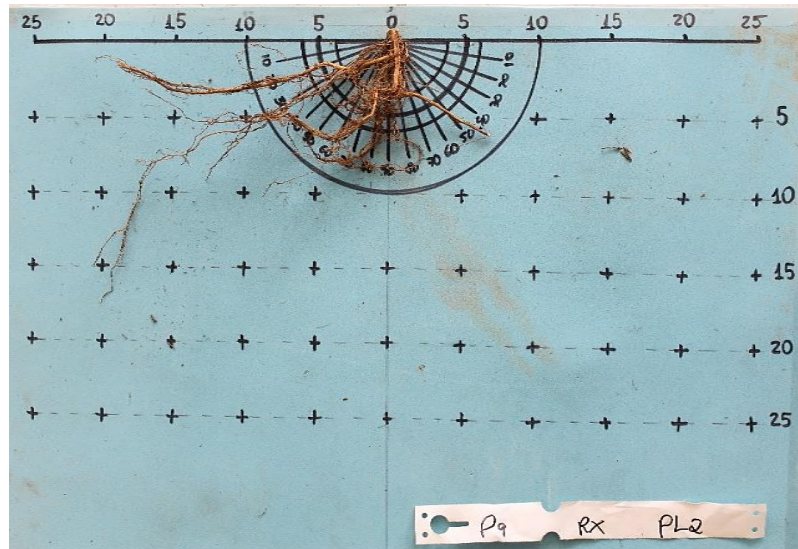


Figura 1 - Representação do método de fenotipagem *Shovelomics*.



Figura 2- Representação do método de fenotipagem Análise digitais de imagens pelo equipamento Scanner de raiz.

Figura 3 - Representação da imagem digitalizada pelo Software WinRhizo ®.

Fonte – Elaborado pela autora, 2020.