

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE MELHORAMENTO DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.) PARA O INCREMENTO DA FIXAÇÃO SIMBIÓTICA DE NITROGÊNIO¹

Pedro Antonio Arraes Pereira² e Wladimir Braidotti³

ABSTRACT

COMPARISON BETWEEN BREEDING METHODS TO ENHANCE NITROGEN FIXATION IN THE COMMON BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.)

The common bean productivity can be improved by the increment of its capacity of nitrogen fixation in the symbiosis with bacteria of genus *Rhizobium*. This study had the objective to compare two breeding methodologies - F₂ derived lines (LDF₂) and single seed descent (SSD) in a cross among the cultivars Negro Argel (good Symbiotic N₂ fixer) and Rio Tibagi (poor symbiotic N₂ fixer) conducted with *Rhizobium* inoculation or mineral nitrogen. Eighteen families were selected on F₄ in the LDF₂ method based on nitrogen content in the grains and at the SSD method sixty seeds were carried out to F₅ without selection. Families selected on F₄ generation (LDF₂) were superior for N₂ fixation potential and grain yield in comparison with families that were conducted without selection (SSD) bean families selected in the F₄ generation under mineral nitrogen treatment showed a tendency to respond less to inoculation than families selected under *Rhizobium* treatment. Furthermore, families selected under *Rhizobium* treatment showed better response when grown under the mineral nitrogen treatment. The same tendency was observed for families which respond to both sources of nitrogen. In this study was observed that selection under *Rhizobium* pressure provide a opportunity to plant breeders to select bean genotypes with enhance nitrogen fixation potential and high grain yield.

KEY WORDS: Nodulation, total N, grain yield.

RESUMO

A produtividade do feijão pode ser melhorada pelo incremento da sua capacidade de fixar nitrogênio através de bactérias do gênero *Rhizobium*. Este estudo comparou duas metodologias de melhoramento – linhas derivadas de F₂ (LDF₂) e descendência de uma única semente (SSD), – em um cruzamento entre as cultivares Negro Argel (bom fixador simbiótico de nitrogênio) e Rio Tibagi (baixo potencial simbiótico de nitrogênio), com nitrogênio mineral ou inoculação com *Rhizobium*. Dezoito famílias foram selecionadas em F₄ pelo método LDF₂, com base no N total nos grãos, e sessenta sementes foram avançadas até F₅ sem seleção, pelo método SSD. As famílias selecionadas em F₄ (LDF₂) foram superiores para o potencial de fixação de nitrogênio e produção de grãos, em comparação com famílias conduzidas sem seleção (SSD). As famílias F₄ selecionadas no tratamento com nitrogênio mineral mostraram uma tendência a responder menos à inoculação, do que as famílias selecionadas no tratamento com *Rhizobium*. Além disso, as famílias selecionadas no tratamento com *Rhizobium* mostraram melhores respostas no tratamento com nitrogênio mineral. A mesma tendência foi observada para as famílias que responderam a ambas as fontes de nitrogênio. Neste estudo foi observado que a seleção sob o tratamento com *Rhizobium* proporciona oportunidade para os melhoristas selecionarem genótipos de feijão com potencial para aumentar a fixação de nitrogênio e a produtividade de grãos.

PALAVRAS-CHAVE: Nodulação, N-total, produtividade de grãos.

INTRODUÇÃO

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), como a maioria das leguminosas, é capaz de utilizar o nitrogênio atmosférico fixado em suas raízes por

bactérias do gênero *Rhizobium*. Embora já se tenham observado consideráveis quantidades de nitrogênio fixado por plantas de feijão inoculados com *Rhizobium phaseoli*, tal fixação, muitas vezes, ainda não é suficiente para dispensar o uso de adubação com

1. Entregue para publicação em fevereiro de 2001.

2. Embrapa Arroz e Feijão, C.P. 179, CEP 75375-000 - Santo Antônio de Goiás, GO. E-mail: arraes@cnpaf.embrapa.br.

3. Universidade Federal de Goiás, C.P. 131, CEP 74001-970 - Goiânia, GO.

nitrogênio mineral sem comprometer a produtividade (Piha & Munns 1987).

A existência de variabilidade genética para fixação simbiótica de nitrogênio e caracteres a ela relacionados, tanto para o feijão como para outras leguminosas de valor comercial, tem sido amplamente demonstrada (Mc Ferson 1983, Pereira *et al.* 1984, St. Clair 1986).

É importante ressaltar que, sendo a fixação simbiótica de nitrogênio uma característica de herança quantitativa (Graham 1981), os métodos de melhoramento a serem empregados devem enfatizar a seleção entre diferentes famílias em diferentes condições (anos e ambientes). Outra questão a se considerar é que os métodos que quantificam o nitrogênio fixado são geralmente indiretos para o nitrogênio total na parte aérea e nos grãos, além de serem métodos destrutivos e, portanto, não permitem a seleção direta de plantas individuais para fixação simbiótica (Bergensen 1980). Quando uma planta é identificada como eficiente, ela já foi destruída, sem possibilidade de deixar descendentes. Tais métodos, portanto, só podem ser utilizados em progênes e não em plantas individuais.

Dois metodologias foram usadas neste estudo – linhas derivadas de F_2 (LDF_2), com seleção e amostragem ao acaso em F_2 e F_3 , e descendência de uma única semente (SSD), em que se utilizaram nitrogênio mineral e inoculação a partir de uma geração F_1 única, obtida entre as cultivares Rio Tabagi e Negro Argel, para comparar as linhagens obtidas quanto à sua capacidade de fixar nitrogênio.

A seleção para rendimento de grãos em condições de inoculação e sem a presença de nitrogênio mineral produz, indiretamente, linhagens com maior capacidade de fixação de nitrogênio do que a seleção em presença de adubação nitrogenada mineral.

O objetivo foi avaliar a metodologia de melhoramento mais eficiente para selecionar plantas de feijão com maior potencial de fixação simbiótica de nitrogênio.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram escolhidos como genitores a cultivar Rio Tibagi, agronomicamente aceitável e com baixo potencial de fixação simbiótica de nitrogênio, e a cultivar Negro Argel, de baixo valor comercial e com alto potencial de fixação simbiótica de nitrogênio.

Para as metodologias de melhoramento utilizaram-se linhas derivadas de F_2 (LDF_2)

modificadas (seleção por amostragem ao acaso F_2 , F_3 e F_4) e descendência de uma semente única (SSD).

No primeiro ano foi feito o cruzamento inicial entre os genitores. As sementes F_1 resultantes foram plantadas em vasos, em casa de vegetação para obtenção da população F_2 . No campo, 500 plantas F_2 , provenientes de sementes colhidas em *bulk*, foram cultivadas e também colhidas em *bulk* para a obtenção das sementes F_3 . O mesmo processo foi repetido para a obtenção das sementes F_4 . Nesse ponto tomaram-se 60 famílias provenientes de plantas diferentes, que foram conduzidas pelo método LDF_2 , e 60 sementes tomadas ao acaso, de diferentes plantas que foram conduzidas pelo método SSD.

Na condução pelo método LDF_2 avaliaram-se as 60 famílias F_4 selecionadas visualmente e, como controle, usaram-se os genitores Rio Tibagi e Negro Argel. O desenho experimental foi em blocos ao acaso com parcelas subdivididas e com quatro repetições. A parcela principal foi fonte de nitrogênio e as subparcelas foram as famílias F_4 . Como fonte de nitrogênio usou-se sulfato de amônio, com aplicação de 20 kg N/ha no plantio e 40 kg N/ha em cobertura, 30 dias após a emergência das plântulas e inoculação com *Rhizobium phaseoli* estripe CIAT 899.

O preparo do solo foi realizado da forma convencional, por meio de aração e gradagem. O plantio e a adubação de plantio (400 kg/ha da fórmula 0-20-10 + 20 kg N/ha) foram feitos em maio de 1988, utilizando-se um espaçamento de 0,5 m entre linhas e a densidade de dez plantas por metro linear. Cada subparcela era composta por duas linhas de 2 m cada. Foram realizados sempre que necessários tratamentos culturais, tais como desbaste, capinas, irrigações e aplicação de defensivos. Foram avaliadas as seguintes características: peso seco da parte aérea (g/planta) e nitrogênio total da parte aérea (mg/planta) no estádio R7; produtividade (kg/ha) no estádio R9 e nitrogênio total nos grãos (kg/ha) no estádio R9.

Amostraram-se cinco plantas em cada subparcela para estimar o peso seco da parte aérea e nitrogênio total no estádio de R7. A produtividade de grãos e nitrogênio total nos grãos foram avaliados em dez plantas no estádio de R9 (Le Baron 1974). As estimativas da porcentagem de nitrogênio foram feitas em laboratório pelo método de Kjeldahl (Bergensen 1980).

A seleção com base nesta característica deu-se para comparar a efetividade dos dois métodos de melhoramento, com vistas ao aumento da fixação simbiótica de nitrogênio, o que, em última análise, reflete na quantidade de nitrogênio nos grãos.

Na condução pelo método SSD para o avanço de 60 famílias F_4 , foi plantada uma semente de cada, em vasos na casa de vegetação. Das 60 famílias F_5 resultantes deste processo, selecionaram-se, ao acaso, 18 famílias.

Para a avaliação das 18 famílias F_5 (LDF_2) e 18 famílias F_5 obtidas pelo método SSD, foram conduzidos dois ensaios com desenho experimental em blocos ao acaso com parcelas subdivididas e com três repetições, em que a parcela principal foi fonte de nitrogênio e as subparcelas foram as famílias. As condições de preparo do solo, fontes de nitrogênio, manejo dos experimentos e as características avaliadas foram as mesmas descritas anteriormente.

As análises de variância foram feitas de acordo com Steel & Torrie (1960), usando-se o programa estatístico MSTAT.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelo método LDF_2 , a análise de variância referente ao peso seco da parte aérea, no estádio R7, o nitrogênio total na parte aérea, a produtividade e o nitrogênio total nos grãos mostraram efeitos altamente significativos com relação às famílias obtidas pelo método LDF_2 (Tabela 1).

Os resultados do N total nos grãos permitiram a seleção de 18 famílias, sendo seis superiores pelo tratamento com inoculante, seis superiores pelo tratamento com N mineral e seis superiores em ambas as fontes de N. O N total foi escolhido como critério de seleção, já que esta característica leva em consideração a produtividade e a concentração de nitrogênio nos grãos.

Pelo método SSD, a análise de variância referente ao peso seco e N total da parte aérea e

produtividade mostraram efeitos altamente significativos em relação à fonte de nitrogênio e efeito altamente significativo em relação às famílias, enquanto que, para N total nos grãos, os efeitos foram significativos apenas em relação à fonte de nitrogênio (Tabelas 2 e 3).

Pelo método LDF_2 , em que se selecionaram 18 famílias, ficou evidenciado que a seleção realizada pelos três diferentes critérios (famílias responsivas ao nitrogênio mineral, à inoculação ou a ambas as fontes), além de aumentar a média na geração seguinte, mostrou que todas as 18 famílias selecionadas, independentemente do critério utilizado, apresentaram melhores resultados para as quatro características, quando conduzidas com nitrogênio mineral (Tabelas 4, 5 e 6).

As famílias que responderam melhor, sob condições de nitrogênio mineral quando conduzidas com inoculação, mostraram uma tendência a apresentarem valores inferiores para as quatro características estudadas. Por outro lado, as famílias selecionadas como responsivas a ambas fontes de nitrogênio tiveram uma tendência de serem superiores, para as características estudadas nas condições de inoculação ou nitrogênio mineral (Tabelas 4, 5 e 6).

As famílias responsivas à inoculação ou a ambas as fontes de nitrogênio produziram melhor nos tratamentos em que se utilizou nitrogênio mineral, o que indica que a seleção de famílias responsivas à inoculação pode proporcionar a identificação de famílias eficientes, tanto na absorção de nitrogênio mineral quanto na absorção de nitrogênio disponível a partir da simbiose com *Rhizobium*.

A seleção de famílias no método LDF_2 , em ambas as fontes de nitrogênio, identificou famílias mais produtivas do que quando foi feita a seleção ao acaso no método SSD.

Tabela 1. Quadrados médios para peso seco da parte aérea (g/planta) (PSPA), N total na parte aérea (mg/planta) (PA), produtividade (kg/ha) e N total nos grãos (kg/ha) em 60 famílias F_4 de feijão (*Phaseolus vulgaris*), genitores Rio Tibagi e Negro Argel, adubadas com nitrogênio mineral ou inoculadas com *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*, estirpe CIAT 899, conduzidas pelo método LDF_2 . Santo Antônio de Goiás, GO. 2000.

FONTE DE VARIACÃO	G. L.	QUADRADO MÉDIO			
		PSPA (g / planta)	N. TOTAL PA (mg / planta)	PRODUTIVIDADE (Kg / ha)	N. TOTAL GRÃOS (kg / ha)
Repetição	3	9,79	6433,78	159291,36	462,67
Fonte de N	1	4,74	2154,38	50734,08	9,40
Erro "a"	3	8,78	3072,92	261279,76	362,60
Famílias	61	11,06 ¹	5195,44 ¹	232308,51 ¹	235,93 ¹
F.N. X Famílias	61	8,04 ²	3875,32	156225,11	150,01
Erro "b"	366	5,77	2866,27	118544,58	116,69
C.V.	-	31,06	31,68	29,54	30,64

1. Significativo a 0,01 de probabilidade.

2. Significativo a 0,05 de probabilidade.

Tabela 2. Quadrados médios para peso seco da parte aérea (g/planta) (PSPA), N total na parte aérea (mg/planta) (PA), produtividade (kg/ha) e N total nos grãos (kg/ha) em 18 famílias F₅ de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), genitores Rio Tibagi e Negro Argel, adubados com nitrogênio mineral ou inoculados com *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*, estirpe CIAT 899, conduzidos pelo método SSD. Santo Antônio de Goiás, GO. 2000.

FONTE DE VARIACÃO	G.L.	QUADRADO MÉDIO			
		PSPA (g/planta)	N TOTAL PA (Kg/ha)	PRODUTIVIDADE (Kg/ha)	N TOTAL GRÃOS (Kg/ha)
Repetição	2	26,21	15503,36	33573,80	778,42
Fonte de N	1	586,00 ¹	339441,51 ¹	1267421,34 ¹	2692,29 ¹
Erro “a”	2	13,04	7796,42	143077,71	131,12
Famílias	19	103,70 ²	35168,48 ²	158338,46 ¹	133,87
F.N. X Famílias	19	37,77	13304,99	103109,19	107,69
Erro “b”	76	31,60	13305,66	88703,04	91,97
C.V.	-	26,62	28,94	17,00	20,03

1. Significativo a 0,01 de probabilidade.

2. Significativo a 0,05 de probabilidade.

Tabela 3. Produtividade (kg/ha) e N total nos grãos (kg/ha) de 18 famílias F₅ de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), genitores Rio Tibagi e Negro Argel, adubados com nitrogênio mineral ou inoculados com *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*, estirpe CIAT 899, conduzidos pelo método SSD. Santo Antônio de Goiás, GO. 2000.

FAMÍLIAS	COM INOCULANTE		COM NITROGÊNIO MINERAL	
	PRODUTIVIDADE (kg/ha)	N TOTAL GRÃOS (kg/ha)	PRODUTIVIDADE (kg/ha)	N TOTAL GRÃOS (kg/ha)
RH-4/5	1.597,03	42,30	1.440,60	40,83
RH-4/10	1.879,90	52,94	2.145,60	63,86
RH-4/15	1.642,63	41,39	2.014,67	55,47
RH-4,56	1.567,30	39,87	1.759,87	50,47
RH-4/32	1.728,97	46,61	2.201,13	59,95
RH-4/34	1.504,73	39,21	2.149,67	55,11
RH-4/60	1.503,50	41,08	1.958,83	63,69
RH-4/6	1.473,30	33,37	1.796,40	48,92
RH-4/33	1.861,73	44,55	1.956,80	52,50
RH-4/27	1.639,33	42,60	1.939,03	54,40
RH-4/42	1.722,40	38,18	1.808,63	54,49
RH-4/47	1.634,47	45,31	1.654,07	45,41
RH-4/23	2.045,20	56,87	1.993,67	54,68
RH-4/13	1.648,50	40,58	2.015,20	51,63
RH-4/4	1.826,80	46,42	1.146,40	42,25
RH-4/44	1.777,87	53,57	1.627,43	49,69
RH-4/46	1.146,97	33,37	1.594,07	48,01
RH-4/30	1.796,27	50,93	1.808,33	50,24
Rio Tibagi	1.418,97	36,95	1.982,70	57,97
Negro Argel	1.568,97	36,69	1.802,47	52,69
DMS (0,05)	484,30	15,60	484,30	15,60

Tabela 4. Quadrados médios para peso seco da parte aérea (g/planta) (PSPA), N total na parte aérea (mg/planta) (PA), produtividade (kg/ha) e N total nos grãos (kg/ha) em 18 famílias F₅ de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), genitores Rio Tibagi e Negro Argel, adubados com nitrogênio mineral ou inoculadas com *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*, estirpe CIAT 899, conduzidos pelo método LDF₂. Santo Antônio de Goiás, GO. 2000.

FONTE DE VARIACÃO	G.L.	QUADRADOS MÉDIOS			
		PSPA (g/planta)	N TOTAL PA (mg/planta)	PRODUTIVIDADE (Kg/ha)	N TOTAL GRÃOS (Kg/ha)
Repetição	3	81,25	34.555,56	187.484,94	255,00
Fonte de N	1	1.084,27 ¹	550.351,10 ¹	817.9947,81 ¹	15.237,11 ¹
Erro "a"	3	11,90	1.059,59	2.816,27	396,39
Famílias	19	63,98 ¹	18.816,74 ¹	60.2821,02 ¹	442,85 ¹
F.N. X Famílias	19	24,22	8.016,50	53.542,19	120,15
Erro "b"	114	19,85	8.289,91	70.909,39	109,20
C.V.	-	19,37	21,01	11,92	16,27

1. Significante a 0,01 de probabilidade.

Tabela 5. Produtividade (kg/ha) e N total nos grãos (kg/ha) de 18 famílias F₅ de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), genitores Rio Tibagi e Negro Argel, adubados com nitrogênio mineral ou inoculados com *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*, estirpe CIAT 899, conduzidos pelo método LDF₂. Santo Antônio de Goiás, GO. 2000.

FAMÍLIAS	COM INOCULANTE		COM NITROGÊNIO MINERAL	
	PRODUTIVIDADE (Kg/ha)	N. TOTAL GRÃOS (Kg/ha)	PRODUTIVIDADE (Kg/ha)	N. TOTAL GRÃOS (Kg/ha)
RH-40/59	1.832,28	52,07	2.181,42	65,10
RH-40/32	2.280,03	63,41	2.662,28	77,83
RH-40/36	1.893,05	49,68	2.082,22	58,85
RH-40/3	2.011,06	60,02	2.601,71	79,70
RH-40/46	1.512,54	43,67	1.917,51	60,95
RH-40/30	1.593,69	46,87	1.920,68	58,52
RI¹	1.853,77	52,62	2.227,64	66,82
RH-40/2	1.704,03	46,44	2.245,33	73,99
RH-40/20	2.187,99	56,83	2.420,41	72,70
RH-40/10	2.034,72	47,93	2.866,82	85,81
RH-40/11	1.763,82	48,01	2.334,73	69,40
RH-40/45	2.109,87	53,33	2.628,13	77,12
RH-40/14	2.302,61	62,41	2.797,47	79,56
RN²	2.017,12	52,49	2.548,81	76,43
RH-40/24	2.319,28	62,37	2.910,70	94,57
RH-40/60	1.992,81	57,72	2.454,09	73,35
RH-40/55	2.042,13	54,62	2.658,29	85,96
RH-40/58	2.142,99	59,18	2.729,03	81,33
RH-40/1	2.139,49	57,46	2.593,25	75,50
RH-40/54	2.164,46	61,37	2.505,91	74,79
RIN³	2.133,52	58,82	2.641,88	80,91
Rio Tabagi	1.768,89	46,98	2.772,24	77,98
Negro Argel	2.368,03	58,64	1.925,78	56,52
DMS (0,05)	373,00	14,64	373,00	14,64

1 - RI - Média das famílias selecionadas como responsivas à inoculação.

2 - RN - Média das famílias selecionadas como responsivas ao nitrogênio mineral.

3 - RNI - Média das famílias selecionadas como responsivas a ambas as fontes de nitrogênio.

Tabela 6. Peso seco da parte aérea (PSPA) (g/planta) e N total na parte aérea (mg/planta) (PA) de 18 famílias F₅ de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), genitores Rio Tibagi e Negro Argel, adubados com nitrogênio mineral ou inoculados com *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*, estirpe CIAT 899, conduzidos pelo método LDF₂. Santo Antônio de Goiás, GO. 2000.

FAMÍLIAS	COM INOCULANTE		COM NITROGÊNIO MINERAL	
	PSPA (g/planta)	N TOTAL PA (mg/planta)	PSPA (g/planta)	N TOTAL PA (mg/planta)
RH-40/59	15,44	289,99	24,61	499,39
RH-40/32	23,84	431,71	26,77	489,57
RH-40/36	21,53	337,69	26,08	551,31
RH-40/3	28,11	514,84	27,71	529,09
RH-40/46	12,93	250,74	22,09	430,38
RH-40/30	15,69	324,08	24,45	485,54
RI ¹	19,59	358,17	25,28	497,54
RH-40/2	18,02	350,15	25,03	494,93
RH-40/20	18,01	330,46	27,68	474,63
RH-40/10	25,84	438,58	25,58	513,78
RH-40/11	16,18	312,77	20,40	397,69
RH-40/45	22,42	410,36	25,72	470,07
RH-40/14	24,09	378,61	24,21	397,17
RN ²	20,76	370,15	24,77	458,04
RH-40/24	18,54	377,10	28,70	576,26
RH-40/60	19,37	380,45	29,40	509,69
RH-40/55	19,36	342,25	29,68	500,86
RH-40/58	26,18	503,86	29,49	570,30
RH-40/1	22,32	391,01	26,54	595,54
RH-40/54	21,68	370,92	27,27	536,43
RIN ³	21,24	394,26	27,68	531,51
Rio Tibagi	19,34	397,74	24,72	486,16
Negro Argel	19,07	358,99	20,96	429,45
DMS (0,05)	6,24	127,50	6,24	127,50

1 - RI = Média das famílias selecionadas como responsivas à inoculação.

2 - RN = Média das famílias selecionadas como responsivas ao nitrogênio mineral.

3 - RNI = Média das famílias selecionadas como responsivas a ambas as fontes de nitrogênio.

CONCLUSÕES

A seleção pelo método LDF₂ com base no N total nos grãos foi eficiente em identificar famílias

superiores para maior fixação de nitrogênio e produtividade. O método LDF₂, em ambas as fontes de nitrogênio, proporciona uma melhor seleção de famílias mais produtivas que o método SSD.

REFERÊNCIAS

- Bergensen, F. J. 1980. Measurements of nitrogen fixation by direct means. In F. J. Bergensen (Ed.). Methods for evaluating biological nitrogen fixation. John Wiley and Sons. New York. 701p.
- Graham, P. H. 1981. Some problems of nodulation and symbiotic fixation in *Phaseolus vulgaris* L. In Latin America. Field Crop Res., 4:93-12.
- Le Baron, M. J. 1974. Developmental stages of the common bean plant. Curr. Inform., 228 : 1-2.
- Mc Ferson, J. R. 1983. Genetic and breeding studies of dinitrogen fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Tese de Doutorado. University of Wisconsin, Madison. 106p.
- Pereira, P. A. A., R. S. Araújo, R. E. M. Rocha & S. Steinmetz. 1984. Capacidade de genótipos de

- feijoeiro fixar N_2 atmosférico. Pesq. Agropec. Bras., 19 (7): 811-15.
- Piha, M. I. & D. J. Munns. 1987. Nitrogen fixation potential of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) compared with other grain legumes under controlled conditions. Plant and Soil, 98:169-87.
- St Clair, D. A. 1986. Segregation, selection on population improvement for ^{15}N determined dinitrogen fixation ability in common beans. Tese de Doutorado. University of Wisconsin, Madison. 121p.
- Steel, R. G. D. & J. H. Torrie. 1960. Principles and procedures of statistics. Mc Graw Inc. New York. 481p.