

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz De Queiroz”**

**Mapeamento associativo para tolerância a altas temperaturas em  
germoplasma exótico de soja (*Glycine max*)**

**Camila Campêlo de Sousa**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora  
em Ciências. Área de concentração: Genética e  
Melhoramento de Plantas

**Piracicaba  
2015**

**Camila Campêlo de Sousa**  
**Bacharel em Ciências Biológicas**

**Mapeamento associativo para tolerância a altas temperaturas em germoplasma  
exótico de soja (*Glycine max*)**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:  
Prof. Dr. **JOSÉ BALDIN PINHEIRO**

Tese apresentada para obtenção do título de  
Doutora em Ciências. Área de concentração:  
Genética e Melhoramento de Plantas

**Piracicaba**  
**2015**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Sousa, Camila Campêlo de

Mapeamento associativo para tolerância a altas temperaturas em germoplasma exótico de soja (*Glycine max*) / Camila Campêlo de Sousa. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2015.

85 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. *Glycine max* 2. Análise de componentes principais 3. Mapeamento associativo  
I. Título

CDD 633.34  
S725m

**"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por me proporcionar força e coragem para vencer todos os obstáculos enfrentados;

À Universidade de São Paulo, por fornecer estrutura física e professores de excelente qualidade durante toda a minha formação nesta etapa de doutorado;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa durante os oito primeiros meses de curso;

À Universidade Federal do Maranhão, por ter me possibilitado a conclusão do doutoramento;

Ao professor Dr. José Baldin Pinheiro, pela confiança a mim depositada, pela orientação, pela paciência de sempre em compreender minha situação e ajudar em todos os momentos que precisei, por me auxiliar em tomada de decisões importantes, pelos ensinamentos em sala de aula e principalmente fora dessa;

Às professoras, Dra. Ângela Celis de Almeida Lopes e Dra. Regina Lucia Ferreira Gomes, pelo carinho, ensinamentos, atenção, dedicação e valorosos conselhos, desde o mestrado;

Aos professores Dr. Francisco Edinaldo Pinto Mousinho, Dr. José Bento de Carvalho e Dra. Sandra Helena Unêda-Trevisoli, por terem dado oportunidade de conduzir os experimentos em Teresina e Jaboticabal;

Aos professores do curso, em especial ao Dr. Antonio Augusto Franco Garcia, Dr. Giancarlo Conde Xavier Oliveira, Dr. Natal Antonio Vello, Dr. Gabriel Margarido, pelos ensinamentos transmitidos;

Aos professores de outros cursos que também contribuíram na minha formação acadêmica, Dr. Paulo Kajeyama, Dr. Weber Amaral, Dra. Taitiany Karita Bonzanini, Dra. Rosebelly Nunes Marques, Dr. Carlos Tadeu Batista, Dr. João Luís Ferreira Batista, Dr. Jaime Martinez, Dr. Lúcio Flavo Lopes Vasconcelos, Dr. Uelliton Messias e Dr. Gregori Ferrão;

Aos funcionários de campo, em especial ao Márcio Araújo Silva, Domingos de Sávio Amaral, Reginaldo de Toledo Lara, Marcos Cella, pela excelente colaboração e ajuda, fundamentais para execução deste trabalho;

À minha família, em especial aos meus pais, Arlene Campêlo de Sousa e Luiz Joriver Soares de Sousa, por todo amor desprendido e por terem batalhado muito para que eu alcançasse meus objetivos e às minhas irmãs Rebeca Campêlo de

Sousa e Maisa Campêlo de Sousa, por me ajudarem a enfrentar tantos momentos difíceis durante o período do doutorado;

Ao meu esposo, Dônavan Holanda Nolêto, pelo todo amor, paciência, compreensão, incentivo e auxílio prestado em todos os momentos desta jornada;

Ao pessoal do laboratório, Diane Simon Rozzetto, Ellida Silvestre Aguiar, Mônica Christina Ferreira, João Paulo Gomes Viana, Maria Imaculada Zucchi, Vanessa Rizzi, Miklos Maximiliano Bajay, Jaqueline Campos, Eleonora Zambrano, Kênia Oliveira, Alessandro Alves, Patrícia Sanae, Felipe Bermudez, Fabiani da Rocha, Fabiana Freitas Moreira, Maisa Curtolo, Mariana Novello, Carolina Grando, Matheus Dominiquini, Jéssica Gimenez Tâmbalo, Júlia Morosini, Nancy Farfan Carrasco, Sabrina Della Bruna, José Maurício Terasawa e Milene Moller, pelos momentos que passamos juntos trabalhando e descontraindo e pelas amizades conquistadas;

Aos colegas de Teresina que muito contribuíram com a execução do experimento lá instalado, Ubirajara Santana Assunção, Benício Oliveira dos Santos Júnior, José Welliton Moura, Antônia Batista, Débora Macedo, Hélio Monteiro, Vinícius Santos, Gabriel Gonçalves, Artur Mendes;

Aos amigos de outros laboratórios, Hendrie Ferreira Nunes, Iradenia Sousa, Glauca Bethânia Rocha Moreira, Felipe Nazzato, José Ribamar Assunção Filho, Marianella Quezada, Felipe Ventorim e Fernando Piotto, pelo apoio e troca de experiências;

Às amigas da pensão da dona Antonia, em especial à Aline Franco, por me fornecerem apoio e compreensão nos dias difíceis;

Aos meus alunos, que são um grande motivo para meu desejo de qualificação e aprimoramento profissional;

A todos que de alguma maneira colaboraram com a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	9
LISTA DE FIGURAS.....	11
LISTA DE TABELAS .....	13
1 INTRODUÇÃO .....	17
Referências.....	24
2 SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE SOJA TOLERANTES À ALTAS TEMPERATURAS.....	31
Resumo.....	31
Abstract.....	31
2.1 Introdução.....	32
2.2 Material e Métodos .....	34
2.2.1 Escolha dos genótipos .....	34
2.2.2 Experimentos de campo.....	34
2.2.3 Avaliação dos genótipos.....	36
2.2.4 Análises estatísticas.....	37
2.3 Resultados e Discussão .....	40
2.3.1 Seleção de genótipos tolerantes à altas temperaturas a partir do experimento conduzido em Teresina-PI.....	40
2.3.2 Seleção de genótipos tolerantes à altas temperaturas a partir do experimento conduzido em Piracicaba-SP.....	52
2.3.3 Seleção de genótipos tolerantes à altas temperaturas a partir do experimento conduzido em Jaboticabal-SP.....	59
2.4 Conclusão.....	66
Referências.....	67
3 MAPEAMENTO ASSOCIATIVO VISANDO PRODUTIVIDADE EM SOJA AVALIADA SOB CONDIÇÕES DE ALTAS TEMPERATURAS.....	71
Resumo.....	71
Abstract.....	72
3.1 Introdução.....	73
3.2 Material e Métodos .....	74
3.2.1 População de mapeamento.....	74
3.2.2 Fenotipagem.....	75

3.2.3 Extração de DNA e genotipagem .....	75
3.2.4 Análise de associação.....	76
3.3 Resultados e Discussão .....	77
3.3.1 Análise do desequilíbrio de ligação.....	77
3.3.2 Mapeamento associativo para detecção de locos relacionados a tolerância às altas e produtividade em soja .....	78
3.4 Conclusão.....	81
Referências.....	81
ANEXO.....	83

## RESUMO

### Mapeamento associativo para tolerância a altas temperaturas em germoplasma exótico de soja (*Glycine max*)

A soja está entre as principais culturas mundiais, uma vez que é uma excelente fonte de proteínas e óleo. Além disso, a espécie é aproveitada também pela indústria de biocombustíveis. Considerando a importância das novas mudanças climáticas no agronegócio; para a soja, esta situação é agravada em virtude das condições de temperatura e latitude recomendadas para a semeadura. Dessa forma, para aumentar a produtividade da cultura mesmo frente ao aquecimento global, faz-se fundamental o desenvolvimento de cultivares com alta produtividade e tolerantes às altas temperaturas. Neste contexto, o objetivo geral deste trabalho foi selecionar genótipos de soja tolerantes ao calor. Uma população composta por 80 PI's de soja e 15 testemunhas foi avaliada sob condições de altas temperaturas, com experimentos instalados nas cidades de Teresina-PI, Piracicaba-SP e Jaboticabal-SP, no ano agrícola 2013/2014. Para a avaliação dos genótipos, foram realizadas análises univariadas e multivariadas. A seleção dos genótipos mais tolerantes a altas temperaturas foi realizada via análise de componentes principais. Nas análises de variâncias univariadas, todos os caracteres mostraram efeitos de tratamentos significativos pelo teste F. Pela análise de componentes principais no experimento conduzido em Teresina-PI, os caracteres que mais contribuíram para a variabilidade dos genótipos avaliados foram: data que metade da parcela atingiu o estágio R5, altura da planta na maturidade, período de granação e valor agronômico. Em Piracicaba-SP, os caracteres que mais contribuíram para a variabilidade foram o período de granação, massa de 100 sementes e o número de dias para a maturidade. Para a seleção dos genótipos mais tolerantes ao calor em Jaboticabal-SP, considerou-se principalmente a altura e a produtividade. Para a análise de mapeamento associativo, a fenotipagem foi realizada em Teresina-PI e avaliados quatro caracteres: altura da planta na maturidade, valor agronômico, massa de cem sementes e produtividade. A genotipagem foi realizada utilizando o chip da empresa Affymetrix. O desequilíbrio de ligação entre pares de marcadores foi calculado pelo coeficiente de determinação  $r^2$  e a análise de associação entre marcadores e o fenótipo de interesse foi realizada utilizando a abordagem de modelo linear generalizado. Foram identificadas 16 associações significativas.

Palavras-chave: *Glycine max*; Análise de componentes principais; Mapeamento associativo





## ABSTRACT

### **Association mapping to heat tolerance in exotic germplasm soybean (*Glycine max*)**

Soybean (*Glycine max*) is one of most important crops in the world. This crop is an source of protein and oil. Beyond that, the species is also utilized for the biofuels industry. The recent climate changes are important on agribusiness, the ones on soybean crop are worse than on other crops because of the conditions of temperature and latitude recommended for planting. Thus, to increase the productivity of the crop even in face of global warming, it is essential that soybean breeding programs promote the development of cultivars highly productive and tolerant to high temperatures. In this context, the aim of this study was to select genotypes for heat tolerance. A population composed of 80 soybean PI's and 15 experimental checks was evaluated under high temperature conditions. The experiments were conducted in the cities of Teresina-PI, Piracicaba-SP and Jaboticabal-SP, in the 2013/2014 season. For the evaluation of the genotypes, univariate and multivariate analysis were performed, and the selection of the most genotypes for heat tolerance was performed by principal component analysis (PCA). In the univariate analyzes of variance, all characters showed significant effects of treatments by test F. In the PCA in the experiment conducted in Teresina-PI, the variables that most contributed to the variability of genotypes were: date in which half of the parcel reached R5 stage, height of the plant at maturity, grain filling period and agronomic value. In Piracicaba-SP PCA, the variables that most contributed to the variability were: grain filling period, 100-grain weight and the number of days to maturity. For the selection of the most heat-tolerant genotypes in Jaboticabal-SP, the height and the yield were the variables that most contributed to the variability. In the the association mapping analysis, the genotypes were evaluated under conditions of high temperatures in Teresina-PI and evaluated for four traits: height of the plant at maturity, agronomic value, 100 grain weight and yield. The genotyping was carried out using the Affymetrix chip. The linkage disequilibrium between pairs of markers was calculated by the determination coefficient  $r^2$  and the association analysis between markers and the phenotype of interest was performed using the generalized linear model approach. A total of 16 significant marker-trait associations were detected for the four traits.

Keywords: *Glycine max*; Principal components analysis; Association mapping



**LISTA DE FIGURAS**

- Figura 1 - Dados diários de temperatura máxima durante a condução do experimento em Teresina-PI no ano de 2014.....35
- Figura 2 - Dados diários de temperatura máxima durante a condução do experimento em Piracicaba-SP na safra 2013/2014.....36
- Figura 3 - Dados médios mensais de temperatura máxima durante a condução do experimento em Jaboticabal-SP na safra 2013/2014.....36
- Figura 4 – Decaimento do desequilíbrio de ligação conforme a distância genética entre os pares de marcadores usados no mapeamento associativo.....78



## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Análise intrablocos das variáveis número de dias para florescimento (NDF), altura de inserção da primeira vagem (AIV), valor agronômico (VA), início da granação (R5), término da granação (R7), período de granação (PEG), altura de plantas na maturidade (APM), acamamento (AC), massa de 100 sementes (MCS) e produtividade de grãos por parcela (PG) em um delineamento em alfa-látice para seleção de genótipos de soja visando tolerância a altas temperaturas no experimento conduzido em Teresina, PI.....42
- Tabela 2 - Matriz de correlação dos dados do experimento conduzido em Teresina, considerando dez caracteres: número de dias para florescimento (NDF), altura de inserção da primeira vagem (AIV), valor agronômico (VA), início da granação (R5), término da granação (R7), período de granação (PEG), altura de plantas na maturidade (APM), acamamento (AC), massa de 100 sementes (MCS) e produtividade de grãos por parcela (PG) em um delineamento em alfa-látice para seleção de genótipos de soja visando a tolerância a altas temperaturas.....46
- Tabela 3 - Valores de autovalores brutos, cumulativo e autovetores dos componentes principais obtidos por meio da análise de componentes principais dos dados do experimento conduzido em Teresina, PI.....48
- Tabela 4 – Características dos genótipos selecionados como tolerantes ao calor do experimento conduzido em Teresina, PI e das testemunhas.....50
- Tabela 5 - Análise intrablocos das variáveis período de granação (PEG), altura de plantas na maturidade (APM), valor agronômico (VA), acamamento (AC), massa de 100 sementes (MCS) e produtividade de grãos por parcela (PG) e produtividade de grãos por parcela (PG) em um delineamento em alfa-látice para seleção de genótipos de soja visando tolerância a altas temperaturas no experimento conduzido em Piracicaba, SP.....53

- Tabela 6 - Matriz de correlação dos dados do experimento conduzido em Piracicaba, considerando os caracteres: período de granação (PEG), altura de plantas na maturidade (APM), valor agrônômico (VA), acamamento (AC), massa de 100 sementes (MCS) e produtividade de grãos por parcela (PG) em um delineamento em alfa-látice para seleção de genótipos de soja visando tolerância a altas temperaturas.....56
- Tabela 7 - Valores de autovalores brutos, cumulativo e autovetores dos sete componentes principais obtidos por meio da análise de componentes principais dos dados do experimento conduzido em Piracicaba, SP.....57
- Tabela 8 – Características dos genótipos selecionados como tolerantes ao calor do experimento conduzido em Piracicaba, SP e das testemunhas.....58
- Tabela 9 - Análise intrablocos das variáveis altura de plantas na maturidade (APM), altura de inserção da primeira vagem (AIV), acamamento (AC), valor agrônômico (VA), período de granação (PEG), número de dias para maturidade (NDM), massa de 100 sementes (MCS) e produtividade de grãos por parcela (PG) em um delineamento em alfa-látice para seleção de genótipos de soja visando tolerância a altas temperaturas no experimento conduzido em Jaboticabal, SP.....60
- Tabela 10 - Matriz de correlação dos dados do experimento conduzido em Jaboticabal, considerando os caracteres: altura de plantas na maturidade (APM), altura de inserção da primeira vagem (AIV), acamamento (AC), valor agrônômico (VA), período de granação (PEG), número de dias para maturidade (NDM), massa de 100 sementes (MCS) e produtividade de grãos por parcela (PG) em um delineamento em alfa-látice para seleção de genótipos de soja visando tolerância a altas temperaturas.....63
- Tabela 11 - Valores de autovalores brutos, cumulativo e autovetores dos componentes principais obtidos por meio da análise de componentes principais dos dados do experimento conduzido em Jaboticabal, SP.....64
- Tabela 12 – Características dos genótipos selecionados como tolerantes ao calor do experimento conduzido em Jaboticabal, SP das testemunhas.....65

Tabela 13 – Marcadores associados significativamente com quatro caracteres relacionados à tolerância ao calor.....79





## 1 INTRODUÇÃO

A soja pertencente ao reino Plantae, divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, ordem Fabales, família Fabaceae (Leguminosae), subfamília Faboideae (Papilionoideae), gênero *Glycine*, espécie *Glycine max* e forma cultivada *Glycine max* (L.) Merrill. É uma planta anual, herbácea, autógama, detentora de ampla variabilidade para as características morfológicas, cujo ciclo varia de 75 dias para as mais precoces e 200 dias para as mais tardias. O caule é do tipo herbáceo, pubescente e ramificado, desenvolvendo-se a partir do eixo embrionário após o início da germinação. Seu crescimento, na maioria das cultivares, é do tipo ortótropo, podendo sofrer influências das condições externas. Quanto ao seu hábito de crescimento, as cultivares de soja podem ter crescimento determinado, semideterminado ou indeterminado, o qual varia de acordo com as características do ápice do caule principal. O fruto é do tipo vagem e pode chegar a 400 vagens por planta, com número de grãos variando de um a cinco por vagem. Contudo, a maioria das cultivares apresenta vagens com dois ou três grãos. Suas sementes possuem variações quanto à forma, tamanho, cor do tegumento e do hilo (SEDIYAMA, 2009).

A soja é detentora de grande importância econômica em virtude de possuir grandes quantidades de proteínas, sendo utilizada em dietas vegetarianas como substituição da proteína animal. Seu óleo possui excelentes propriedades culinárias e benéficas para a saúde, aproveitado inclusive pela indústria de biocombustíveis; além de possuir micronutrientes essenciais e vitaminas e, de acordo com Kim et al. (2014), em especial as variedades de cor preta são ricas nas vitaminas do complexo B: B1(tiamina), B2(flavina), B3(nicotinamina), B5(ácido pantotênico) e B6 (piridoxina).

A espécie tem como centro de origem a China, provavelmente na região média do rio Amarelo, localizado na China Central (LI et al., 2013a) e foi domesticada há aproximadamente 6.000 anos (ZHAO e GAI, 2004). O processo de domesticação da soja selvagem ocorreu em meio a eventos de gargalo de garrafa e seleção. Guo et al. (2010) estudaram, por meio de microssatélites, 79 genótipos crioulos de soja cultivada e 231 genótipos de soja selvagens (*G. soja*), os quais representavam a distribuição de toda a espécie de soja selvagem no leste da Ásia e observaram que a maioria dos genótipos crioulos foram agrupados com a soja selvagem oriunda do

sul da China, Coreia do Sul e Japão. Os resultados dessa análise filogenética ainda apontaram uma origem monofilética de todas as cultivares estudadas. Os autores realizaram também simulação do efeito de gargalo de garrafa durante a domesticação da soja e mostraram que o processo de domesticação durou 3.000 anos e ocorreu um efeito moderado de gargalo. Essa formação de um clado monofilético entre soja selvagem e soja domesticada também foi apontada no estudo de Li et al. (2010), que também realizaram um estudo com marcadores microsatélites e SNPs, porém com materiais próximos à região do Rio Amarelo (China). No entanto, os autores ressaltam que o pool gênico entre as duas espécies é distinto.

Wang et al. (2012) realizaram análises filogenéticas em genótipos de *Glycine max* (soja cultivada), *Glycine soja* (soja selvagem) e *Glycine gracilis* (considerada uma espécie intermediária entre as primeiras) e detectaram que a *Glycine gracilis* não foi uma espécie de transição de *Glycine soja* para *Glycine max* no processo de domesticação, uma vez que as análises de agrupamento alocaram seus genótipos no mesmo grupo da soja selvagem.

Além dos efeitos de deriva, a seleção artificial também foi um fator que contribuiu na composição do pool gênico atual da soja. Li et al. (2013b), em um estudo com SNPs apontaram que a seleção artificial durante domesticação levou a uma redução ainda mais acentuada na diversidade genética da soja do que a mudança de variedades crioulas para cultivares elite. Apenas uma pequena proporção do germoplasma estudado (2,99%) parece ter sido afetada por seleção artificial para características de interesse agrônomo.

Em virtude do exposto e considerando-se que a soja cultivada possui uma base genética estreita, é patente a necessidade de estudos com genótipos crioulos, soja selvagem e *plant introduction* (PI's), visando a busca de caracteres de interesse agrônomo. Nesse sentido, a primeira estação experimental para conservação de germoplasma de soja foi fundada em 1913 na província de Jinlin pelo professor Wang e desde então estratégias de conservação a médio e longo prazo vêm sendo pensadas no intuito da conservação do germoplasma da espécie, com várias instituições responsáveis. Esses materiais (PI's) vêm sendo fenotipados e genotipados para utilização em programas de melhoramento (QIU et al., 2011). No

entanto, para uma utilização desses genótipos são indispensáveis métodos precisos de fenotipagem, marcadores funcionais abundantes, genotipagem de alto rendimento e programas de melhoramento eficazes.

Portanto, estudos de conservação e caracterização de germoplasma exótico, como as PI's, são de fundamental importância para futura ampliação da base genética da espécie. Assim, os genótipos disponíveis nos bancos de germoplasma, para que possam ser efetivamente utilizados pelos melhoristas, devem ser avaliados para diferentes caracteres de interesse morfoagronômicos, como por exemplo, a tolerância a estresses abióticos.

Estresses abióticos, por serem imprevisíveis, constituem-se em fatores de risco para a agricultura e podem reduzir significativamente os rendimentos de lavouras, restringindo assim, as áreas agricultáveis (BRITO et al., 2012). Os estresses abióticos, como seca, salinidade, altas e baixas temperaturas são responsáveis por grandes perdas na produtividade da soja (BARBOSA et al., 2012). Dentre esses, o déficit hídrico é o principal fator limitante de produtividade da cultura, acarretando reduções de 24 a 50% (ROLLA et al., 2013). O déficit hídrico ocasiona alterações bioquímicas, celulares, anatômicas, morfológicas, heliotrópicas, fisiológicas, além de desencadear a expressão diferencial de fatores transcricionais e de genes envolvidos com mecanismos de defesa à seca (MARTINS et al., 2008; STOLF et al., 2009; RAKOCEVIC et al., 2010; STOLF-MOREIRA et al., 2010; SANTOS et al., 2012; MARCOLINO-GOMES et al., 2013). Além disso, quando o déficit hídrico ocorre em condições de altas temperaturas, as consequências para a planta são ainda maiores.

O estresse por altas temperaturas é definido como o aumento da temperatura além do limítrofe que cada cultura suporta, acarretando danos irreversíveis ao desenvolvimento e crescimento da planta. As principais respostas das plantas às altas temperaturas dividem-se em: respostas morfológicas, anatômicas, fenológicas, fisiológicas e moleculares. As respostas morfológicas mais importantes das plantas às altas temperaturas são a redução do crescimento e produtividade das culturas, mas também pode ocorrer senescência, abscisão foliar, alterações na forma das folhas, inibição do crescimento de raiz e parte aérea, déficit de enchimento de grãos e dano ou descoloração do fruto. Os danos anatômicos causados em consequência

ao calor são similares aos danos causados pela seca: redução do tamanho celular, fechamento dos estômatos, aumento dos estômatos e do xilema das raízes. Durante a fase vegetativa, o calor causa prejuízos nas trocas gasosas e durante a fase reprodutiva, causa aborto floral e infertilidade do pólen. Fisiologicamente, há uma redução da disponibilidade de água e do potencial hídrico da planta, acúmulo de osmólitos, alterações na taxa fotossintética e no funcionamento do fotossistema II, principalmente nas plantas C<sub>3</sub>, aumento da fluidez das membranas e desnaturação das proteínas, além de acarretar em alterações nos níveis hormonais. Entre as respostas ao nível molecular encontram-se: indução de estresses oxidativos e conseqüentemente acúmulos de antioxidantes e expressão de proteínas de estresse, tais como as proteínas de choque térmico (HSPs), ubiquitinina, entre outras (WAHID et al., 2007; THUZAR et al., 2010).

Utilizando uma abordagem no campo da proteômica, Ahsam et al. (2010), encontraram um total de 54, 35, e 61 proteínas que se expressam em condições de estresse térmico em folhas, meristemas e raízes de soja, respectivamente. A proteína de choque térmico HSP70 é a principal responsável pela defesa da planta em altas temperaturas, no entanto, os autores ressaltam que a defesa por meio dessas proteínas se dá apenas para o calor, e não estão envolvidas com a resposta ao frio. Xu et al. (2013) encontraram uma superexpressão de cinco genes (GmHsp90A2, GmHsp90A4, GmHsp90B1, GmHsp90C1.1 and GmHsp90C2.1), que codificam proteínas de choque térmico HSP90 em respostas a estresses abióticos e recentemente, Kidokoro et al. (2015) confirmaram ainda que o fator de transcrição GmDREB1B codifica genes que ativam respostas específicas em diferentes estresses abióticos, tais como seca, calor e frio.

Além de problemas enfrentados em consequência de estresses abióticos, a soja que é classificada como planta de dias curtos, detém uma ampla variabilidade genética em relação às exigências fotoperiódicas. As cultivares convencionais, na grande maioria, são altamente sensíveis a mudanças entre latitudes ou datas de semeadura, devido às suas respostas às variações no fotoperíodo (BONATO e VELLO, 1999). O fotoperíodo e a temperatura são importantes para o desenvolvimento da cultura da soja, por provocarem mudanças qualitativas ao longo do seu ciclo. As respostas a esses dois fatores não são lineares durante o ciclo de vida da cultura, pois existem subperíodos, tais como na fase vegetativa, em que ela

é incapaz de perceber esses sinais. A sensibilidade fotoperiódica varia com o genótipo e o grau de resposta ao estímulo fotoperiódico é o principal determinante da área de adaptação das diferentes cultivares. Nas cultivares de soja sensíveis, a resposta ao fotoperíodo é quantitativa, o que significa que a floração ocorrerá de qualquer modo. No entanto, o tempo requerido para tal dependerá do comprimento do dia, sendo mais rápida a indução em dias curtos do que em dias longos (RODRIGUES et al., 2001).

O fotoperíodo influencia a produção de soja, sobretudo em condições de baixa latitude, onde o comprimento do dia e da noite são semelhantes. Rocha et al. (2012) avaliaram o desempenho agrônomico de genótipos de soja cultivadas sob baixa latitude, nas condições edafoclimáticas de Teresina-PI. Os autores estudaram características fenológicas e de produtividade em 32 genótipos, entre linhagens e cultivares comerciais e identificaram 13 com bons desempenhos agrônomicos em baixas latitudes, com médias de produtividade de grãos acima de 2.900 kg ha<sup>-1</sup>, destacando-se as variedades Conquista e Valiosa RR e as linhagens BCR892 G132, BCR651 G75 e BCR6651 G68.

Diante do exposto, o impacto do aquecimento global vai impor grandes restrições fisiológicas para a produtividade nos trópicos nos próximos anos (THUZAR et al., 2010), necessitando-se portanto de estudos que visem identificar e selecionar genótipos de soja tolerantes às altas temperaturas em diferentes regiões de cultivo.

Entretanto, há uma escassez de estudos relacionados a essa temática, em virtude sobretudo da dificuldade de avaliação dos genótipos nessas condições de estresses em campo experimental; sendo registrados apenas poucos trabalhos na literatura científica com o tema (SAPRA e ANAELE, 1991; GILBSON e MULLEN, 1996; DE RONDE et al., 2004; ZHAO et al., 2013; KIDOKORO et al., 2015).

Segundo Wahid et al. (2007), o melhoramento genético para tolerância às altas temperaturas pode ser feito via melhoramento convencional e/ou por meio de estratégias moleculares, tais como o uso de marcadores moleculares visando seleção assistida, construção de mapas genéticos na busca de QTLs relacionados à tolerância às altas temperaturas, seleção genômica ampla e estudos de mapeamento associativo.

O mapeamento associativo, também conhecido como associação genética ou mapeamento por desequilíbrio de ligação, é uma abordagem analítica utilizada na busca de QTLs com caracteres de interesse, visando posterior uso no melhoramento por meio da seleção assistida por marcadores (ZIEMS et al., 2014). A diversidade genética é avaliada através de populações naturais ou acessos de bancos de germoplasma para identificar polimorfismos que se correlacionam com variação fenotípica. Desta forma, o mapeamento associativo busca associar determinado fenótipo a genótipos de interesse utilizando como pressuposto o desequilíbrio de ligação ou desequilíbrio de fase gamética. Segundo Flint-Garcia, Thornsberry e Buckler (2003), desequilíbrio de ligação pode ser entendido como a associação não randômica de alelos em diferentes locos, ou seja, consiste na correlação de alelos em uma população e desempenha um papel fundamental no mapeamento associativo, determinando ainda a resolução dos estudos associativos.

A extensão do desequilíbrio de ligação é o que irá determinar o delineamento experimental, o número e a densidade dos marcadores. Quando o desequilíbrio de ligação é relativamente grande, uma menor densidade de marcadores é suficiente para o levantamento de todo o genoma (SAIDOU et al., 2014).

As estatísticas mais comuns para mensuração do desequilíbrio de ligação são:  $r^2$  e  $D'$ . O  $r^2$  corresponde ao quadrado do coeficiente de correlação entre dois locos, enquanto  $D'$  é baseado nas frequências alélicas observadas. Ambas representam aspectos diferentes do desequilíbrio de ligação (FLINT-GARCIA, THORNSBERRY e BUCKLER, 2003). Segundo Gupta et al. (2005),  $D'$  capta as diferenças baseadas apenas nos eventos de recombinação, já o  $r^2$  sumariza histórias de mutação e recombinação.

De acordo com Hwang et al. (2014), os estudos de associação apresentam maiores resoluções que o mapeamento de QTLs via análise de ligação em termos de definição do genoma e precisão na posição de um gene ou QTL. Outra vantagem do mapeamento associativo é o potencial para explorar os eventos recombinantes que ocorreram na história evolutiva das populações (MEI et al., 2014).

Um fator que influencia no sucesso do mapeamento associativo é a presença de populações estruturadas, ocasionadas pelos eventos de seleção, migração, adaptação local, isolamento geográfico e deriva genética (HWANG et al., 2014).

Existem duas abordagens de mapeamento associativo, a abordagem via genoma completo e por gene candidato. A abordagem por gene candidato é uma alternativa quando o desequilíbrio de ligação decresce mais rapidamente ou em culturas com informação genômica limitada (SAIDOU et al., 2014); no entanto, poucos estudos têm obtido sucesso com essa abordagem. A abordagem de genoma completo busca em todo o genoma, associações entre os marcadores e o fenótipo de interesse e necessita de uma maior cobertura de marcadores e maior desequilíbrio de ligação (ZHU et al., 2008).

Os estudos de associação podem ser analisados via modelo linear generalizado e via modelo linear misto, o qual inclui a matriz de parentesco com efeito aleatório. Yu et al. (2005) propuseram uma análise de mapeamento associativo para populações com diferentes parentescos com abordagem de modelo misto, que controla os erros tipo I e tipo II. Os autores mostraram que o método proposto com a inclusão da matriz de estrutura populacional (matriz Q) e da matriz de parentesco (matriz K) diminui as associações espúrias, as quais se constituem o principal problema da análise via modelo linear generalizado.

O mapeamento associativo que iniciou em genética humana, também vem sendo utilizado em animais e plantas e de acordo com Gupta et al. (2014), a abordagem tem sido bem sucedida em culturas agronomicamente importantes. Estudos recentes de mapeamento associativo em soja foram realizados na detecção de locos relacionados a diferentes caracteres de interesse, tais como: resistência a doenças (KANG et al., 2012), tamanho e forma da sementes (NIU et al., 2013), clorose por deficiência de ferro (HAO et al., 2012; LAMKEY, HELMS e GOOS, 2013), tolerância ao alumínio (KORIR et al., 2013), conteúdo de óleo e proteína (HWANG et al., 2014) e produtividade (SIGRIST, 2012; HU et al., 2014).

O mapeamento associativo também pode ser realizado em conjunto com o mapeamento de QTLs via análise de ligação, Korir et al. (2013) combinaram mapeamento associativo com mapas de ligação para identificar marcadores moleculares associados a QTLs que conferem tolerância ao alumínio em soja. Os pesquisadores estudaram 188 cultivares de soja de regiões próximas ao rio Amarelo na China e 184 RILs provenientes do cruzamento de uma cultivar tolerante ao



alumínio e uma cultivar susceptível. Neste estudo, foram identificados 5 marcadores associados a tolerância ao alumínio.

Uma das principais aplicações da técnica é a utilização na seleção assistida por marcadores (SAM). Lamkey, Helms e Goos (2013) em seu estudo de mapeamento associativo em soja para selecionar materiais tolerantes à clorose por deficiência de ferro, também compararam a seleção fenotípica com a seleção assistida com marcadores com base no resultado do mapeamento. No entanto, a eficácia da SAM foi reduzida em virtude de muitos marcadores apresentarem uma frequência alélica menor que 0,5.

Com a crescente utilização do sequenciamento por genotipagem, que garante um número cada vez maior de SNPs, o mapeamento associativo utilizando esse tipo de marcadores tem sido considerado uma ferramenta promissora. Além disso, o mapeamento associativo elimina a principal desvantagem da análise de ligação clássica uma vez que não necessita de populações genéticas específicas e nem com parentesco conhecido (GUPTA et al., 2014), podendo ser realizado em populações naturais ou acessos de bancos de germoplasma.

Este trabalho objetivou selecionar genótipos tolerantes a altas temperaturas a partir de uma população base de PI's de soja avaliadas em condições de campo experimental, em três locais diferentes, por meio de análises univariadas, multivariadas e mapeamento associativo, para posterior incorporação no Programa de Melhoramento de Soja desenvolvido pelo Laboratório de Diversidade Genética e Melhoramento na ESALQ-USP.

## Referências

AHSAN, N.; DONNART, T.; NOURI, M. Z.; KOMATSU, S. Tissue-Specific Defense and Thermo-Adaptive Mechanisms of Soybean Seedlings under Heat Stress Revealed by Proteomic Approach. **Journal of Proteome Research**, Washington, v. 9, p. 4189-4204, 2010.

BARBOSA, E.G.G.; LEITE, J.P.; MARIN, S.R.R.; MARINHO, J.P.; CARVALHO, J.F.C.; FUNGANTI-PAGLIARINI, R.; FARIAS, J.R.B.; NEUMAIR, N.; MARCELINO-GUIMARÃES, F.C.; OLIVEIRA, M.C.N.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; NAKASHIMA, K.; MARUYAMA, K.; KANAMORI, N.; FUJITA, Y.; YOSHIDA, T.; NEPOMUCENO, A.L. Overexpression of the BA-Dependent DREB1 Transcription Factor from *Arabidopsis thaliana* improves Soybean Tolerance to Water Deficit. **Plant Molecular Biology Reporter**, New York, v. 31, n. 3, p. 719-730, 2012.

BONATO, E.R.; VELLO, N.A. Aspectos genéticos do tempo para o florescimento em variantes naturais de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 6, p. 988-993, 1999.

BRITO, L.T.L.; CAVALCANTI, N.B.; SILVA, A.S.; PEREIRA, A.P. Produtividade da água de chuva em culturas de subsistência no Semiárido Pernambucano. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 32, n.1, p. 102-109, 2012.

DE RONDE, J.A.; CRESSC, W.A.; KRUGER, G.H.J.; STRASSERD, R.J.; VAN STADEN, E.J. Photosynthetic response of transgenic soybean plants, containing an *Arabidopsis* P5CR gene, during heat and drought stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, p. 1211–1224, 2004.

FLINT-GARCIA, S.A.; THORNSBERRY, J.M.; BUCKLE, E.S. Structure of linkage disequilibrium in plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 54, p. 357-374, 2003.

GIBSON, L.R.; MULLEN, R.E. Soybean seed quality reductions by high day and night temperature. **Crop Science**, Madison, v. 36, p. 1615-1619, 1996.

GUO, J.; WANG, Y.; SONG, S.; ZHOU, J.; QIU, L.; HUANG, H.; WANG, Y. A single origin and moderate bottleneck during domestication of soybean (*Glycine max*): implications from microsatellites and nucleotide sequences. **Annals of Botany**, Oxford, v. 106, p. 505–514, 2010.

GUPTA, K.P.; RUSTGI, S.; KULWAL, P.L. Linkage disequilibrium and association studies in higher plants: Present status and future prospects. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 57, p. 461–485, 2005.

GUPTA, S.; KUMARI, K.; MUTHAMILARASAN, M.; PARIDA, S.; PRASAD, M. Population structure and association mapping of yield contributing agronomic traits in foxtail millet. **Plant Cell Reports**, Heidelberg, v. 33, p. 881–893, 2014.

HAO, D.R.; CHAO, M.N.; YIN, Z.T.; YU, D.Y. Genome-wide association analysis detecting significant single nucleotide polymorphisms for chlorophyll and chlorophyll fluorescence parameters in soybean (*Glycine max*) landraces. **Euphytica**, Dordrecht, p. 919-930, 2012.

HU, Z.; ZHANG, D.; ZHANG, G.; KAN, G.; HONG, D.; YU, D. Association mapping of yield-related traits and SSR markers in wild soybean (*Glycine soja* Sieb. and Zucc.). **Breeding Science**, Tokyo, v. 63, p. 441-449, 2014.

HWANG, E.; SONG, Q.; JIA, G.; SPECHT, J.E.; HYTEN, D.L.; COSTA, J.; CREGAN, P.B. A genome-wide association study of seed protein and oil content in soybean. **BMC Genomics**, Londres, v.15, n.1, p. 1-12, 2014.

KANG, Y.J.; KIM, K.H.; SHIM, S.; YOON, M.Y.; SUN, S.; KIM, M.Y.; VAN, K.; LEE, S. Genome-wide mapping of NBS-LRR genes and their association with disease resistance in soybean. **BMC Plant Biology**, London, v.12, n.139, 2012.

KIDOKORO, S.; WATANABE, K.; OHORI, T.; MORIWAKI, T.; MARUYAMA, K.; MIZOI, J.; HTWE, N.M.P.S.; FUJITA, Y.; SEKITA, S.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Soybean DREB1/CBF-type transcription factors function in heat and drought as well as cold stress-responsive gene expression. **The Plant Journal**, Malden, v. 81, p. 505–518, 2015.

KIM, G.; LEE, J.; AHN, K.; HWANG, Y.; CHOIC, Y.; CHUND, Y.; CHANGE, W.; CHOUNG, M. Differential responses of B vitamins in black soybean seeds. **Food Chemistry**, Reading, v. 153, p. 101–108, 2014.

KORIR, P.C.; ZHANG, J.; WU, K.; ZHAO, T.; GAI, J. Association mapping combined with linkage analysis for aluminum tolerance among soybean cultivars released in Yellow and Changjiang River Valleys in China. **Theoretical Applied Genetics**, Heidelberg, v. 126, p.1659–1675, 2013.

LAMKEY, C.M.; HELMS, T.C.; GOOS, R.J. Marker-assisted versus phenotypic selection for iron deficiency chlorosis in soybean. **Euphytica**, Dordrecht, v. 194, p. 67–78, 2013.

LI, Y.H.; LI, W.; ZHANG, C.; YANG, L.; CHANG, R.-Z.; GAUT, B.S.; QIU, L.J. Genetic diversity in domesticated soybean (*Glycine max*) and its wild progenitor (*Glycine soja*) for simple sequence repeat and single-nucleotide polymorphism loci. **New Phytologist**, Lancaster, v. 188, p. 242–253, 2010.

LI, Y. H.; ZHANG, C.; SMULDERS, J.M.; LI, W.; MA, Y.S.; XU, Q.; CHANG, R.Z.; QIU, L.J. Analysis of average standardized SSR allele size supports domestication of soybean along the Yellow River. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 60, n. 2, p. 763-776, 2013a.

LI, Y. H.; ZHAO, S.C.; MA, J. X.; LI, D.; YAN, L.; LI, J.; QI, X. T.; GUO, X.S.; ZHANG, L.; HE, W.M.; CHANG, R.Z.; LIANG, Q.S.; GUO, Y.; YE, C.; WANG, X.B.; TAO, Y.; GUAN, R.X.; WANG, J.Y.; LIU, Y. L.; JIN, L.G.; ZHANG, X.Q.; LIU, Z.X.; ZHANG, L.J.; CHEN, J.; KANG, K.J.; NIELSEN, R.; LI, R.Q.; CHEN, P.Y.; LI, W. B.; REIF, J.C.; PURUGGANAN, M.; WANG, J.; ZHANG, M.C.; WANG, M.C.; QIU, L. J. Molecular footprints of domestication and improvement in soybean revealed by whole genome re-sequencing. **BMC Genomics**, London, v. 14, n. 14, p. 1-12, 2013b.

MARCOLINO-GOMES, J.; RODRIGUES, F.A.; OLIVEIRA, M.C. N.; FARIAS, J. R. B.; NEUMAIR, N.; ABDELNOOR, R. V.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; NEPOMUCENO, A. L. Expression pattern of drought stress marker genes in soybean roots under two water deficit systems. **Plos One**, San Francisco, v. 8, n. 5, p. 212-221, 2013.

MARTINS, P.K.; JORDÃO, B.Q.; YAMANAKA, N.; FARIAS, J.R.B.; BENEVENTI, M.A.; BINNECK, E.; FUGANTI, R.; STOLF, R.; NEPOMUCENO, A.L. Differential gene expression and mitotic cell analysis of the drought tolerant soybean (*Glycine max* L. Merrill Fabales, Fabaceae) cultivar MG/BR46(Conquista) under two water deficit induction systems. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 31, n. 2, p. 512-521, 2008.

- MEI, H.; AI, N.; ZANG, X.; NING, Z.; ZHANG, T. QTLs conferring FOV 7 resistance detected by linkage and association mapping in Upland cotton. **Euphytica**, Dordrecht, v. 197, p. 237–249, 2014.
- NIU, Y.; XU, Y.; LIU, X.; YANG, S.; WEI, S.; XIE, F.; ZHANG, Y. Association mapping for seed size and shape traits in soybean cultivars. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 31, p. 785–794, 2013.
- QIU, L.J.; CHEN, P.Y.; LIU, Z.X.; LI, Y.H.; GUAN, R.X.; WANG, L.H.; CHANG, R. Z. The worldwide utilization of the Chinese soybean germplasm collection. **Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization**, Cambridge, v. 9, n. 1, p. 109–122, 2011.
- RAKOCEVIC, M.; NEUMAIR, N.; OLIVEIRA, G.M.; NEPOMUCENO, A.L.; FARIAS, J.R.B. Heliotropic responses of soybean cultivars at three phenological stages and under two water regimes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 7, p. 661-670, 2010.
- ROCHA, R.S.; SILV, J.A.L.; NEVES, J.A.; SEDIYAMA, T.; TEIXEIRA, R.C. Desempenho agrônomo de variedades e linhagens de soja em condições de baixa latitude em Teresina-Pi. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 43, n. 1, p. 154-162, 2012.
- RODRIGUES, O.; DIDONET, A.D.; LHAMBY, J.C.B.; BERTAGNOLLI, P.F.; DA LUZ, E.J.S. Resposta quantitativa do florescimento da soja à temperatura e ao fotoperíodo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 3, p. 431-437, 2001.
- ROLLA, A.A.P.; CARVALHO, J.F.C.; PAGLIARINI, R.F.; ENGELS, C.; TIO, A.; MARIN, S.R.R.; OLIVEIRA, M.A.N.; BENEVENTI, M.A.; MARCELINO-GUIMARÃES, F.C.; FARIAS, J.R.B.; NEUMAIR, N.; NAKASHIMA, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; NEPOMUCENO, A.L. Phenotyping soybean plantas transformed with rd29A: AtDREB1A for drought tolerance in the greenhouse and Field. **Transgenic Research**, v. 23, n. 1, p. 75-87, 2013.
- SAÏDOU, A.A.; CLOTAULT, J.; COUDERC, M.; MARIAC, C.; DEVOS, K.M.; THUILLET, A.C.; AMOUKOU, I.A.; VIGOUROUX, Y. Association mapping, patterns of linkage disequilibrium and selection in the vicinity of the PHYTOCHROME C gene in pearl millet. **Theoretical and Applied Genetics**, Heidelberg, v. 127, p.19–32, 2014.
- SANTOS, E.L.; CATTELAN, A.J.; PRETE, C.E.C.; NEUMAIR, N.; OLIVEIRA, M. C.N.; FARIA, J.R.B.; CARVALHO, J.F.C.; NEPOMUCENO, A.L. Water stress affecting nodulation, oil, protein and grain yield of soybean cultivars. **Global Science and Technology**, Rio Verde, v. 5, n. 2, p.109-120, 2012.
- SAPRA, V.T.; ANAELE, A.O. Screening Soybean Genotypes for Drought and Heat Tolerance. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Madison, v. 167, n. 2, p. 96-102, 1991.
- SEDIYAMA, T. (Org.). **Tecnologias de produção e usos da soja**. Londrina: Mecenas, 2009, v. 1. 314 p.

SIGRIST, M.S. **Mapeamento associativo de locos relacionados à produtividade de grãos de soja.** (Tese de Doutorado em Agronomia) - Universidade de São Paulo – Programa de Pós-graduação em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), 2012.

STOLF, R.; MEDRI, M.E.; PIMENTA, J.A.; BOERGER, M.R.T.; DIAS, J.; LEMOS, N.G.; OLIVEIRA, M.C.N.; BROGIN, R.L.; YAMANAKA, N.; NEUMAIR, N.; FARIAS, J.R.B.; NEPOMUCENO, A.L. Morpho-anatomical and micromorphometrical evaluations in soybean genotypes during water stress. **Brazilian Archives of Biology Technology**, Curitiba, v. 52, n. 6, p. 1313-1331, 2009.

STOLF-MOREIRA, R.; MEDRI, M.E.; NEUMAIR, N.; LEMOS, N.G.; BROGIN, R.L.; MARCELINO, F.C.; OLIVEIRA, M.C.N.; FARIAS, J.R.R.; ABDELNOOR, R.V.; NEPOMUCENO, A.L. Cloning and quantitative expression analysis of drought-induced genes in soybean. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 9, n. 2, p. 858-867, 2010.

THUZAR, M; PUTEH, A.B.; ABDULLAH, N.A.P.; LASSIM, M.B.M.; JUSOFF, K. The Effects of Temperature Stress on the Quality and Yield of Soya Bean [*Glycine max* L.) Merrill.]. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 2, n. 1, p. 172-179, 2010.

YU, J.; PRESSOIR, G.; BRIGGS, W.H.; BI, I.V.; YAMASAKI, M.; DOEBLEY, J.F.; MCMULLEN, M.D.; GAUT, B.S.; NIELSEN, D.M.; HOLLAND, J.B.; KRESOVICH, S.; BUCKLER, E.S. A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. **Nature Genetics**, London, v. 38, p. 203-208, 2005.

XU, J.; XUE, C.; XUE, D.; ZHAO, J.; GAI, J.; GUO, N.; XING, H. Overexpression of GmHsp90s, a Heat Shock Protein 90 (Hsp90) Gene Family Cloning from Soybean, Decrease Damage of Abiotic Stresses in *Arabidopsis thaliana*. **Plos One**, San Francisco, v. 8, n. 7, 2013.

WAHID, A.; GELANIA, S.; ASHRAFA, M.; FOOLAD, M. R. Heat tolerance in plants: An overview. **Environmental and Experimental Botany**, v. 61, p. 199–223, 2007.

WANG, K.J.; LI, X.H. Phylogenetic relationships, interspecific hybridization and origin of some rare characters of wild soybean in the subgenus *Glycine soja* in China. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 59, n. 8, p. 1673-1685, 2012.

ZHAO, L.; WANG, Z.; LU, G.; WANG, P.; LI, Y.; LV, Q.; SONG, X.; LI, D.; GU, Y.; LIU, L.; LI, W. Overexpression of a GmGBP1 ortholog of soybean enhances the responses to flowering, stem elongation and heat tolerance in transgenic tobaccos. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 82, n. 3, p. 279-299, 2013.

ZHAO, T. J.; GAI, J. Y. The origin and evolution of cultivated soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. **Scientia Agricultura Sinica**, Ontario, v. 37, n. 7, p. 954–962, 2004.

ZIEMS, L.A.; HICKEY, L.T.; HUNT, C.H.; MACE, E.S.; PLATZ, G.J.; FRANCKOWIAK, J.D.; JORDAN, D.R. Association mapping of resistance to *Puccinia hordei* in Australian barley breeding germplasm. **Theoretical and Applied Genetics**, Heidelberg, v. 127, p. 1199–1212, 2014.

ZHU, C.; GORE, M.; BUCKLER, E. S.; YU, J. Status and prospects of association mapping in plants. **The Plant Genome**, Madison, v. 1, n. 1, p. 5-20, 2008.



## 2 SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE SOJA TOLERANTES ÀS ALTAS TEMPERATURAS

### Resumo

A soja tem grande importância mundial em virtude de ser uma excelente fonte proteica utilizada tanto para alimentação humana quanto para a alimentação animal, além de possuir um óleo de excelente qualidade e ser aproveitada pela indústria de biocombustíveis. Com o desenvolvimento de cultivares tolerantes ao fotoperíodo, a semeadura da soja se expandiu para regiões que até então não se vislumbrava o cultivo. A expansão da soja pelo Cerrado brasileiro, que tem por característica períodos de elevadas temperaturas, pode se tornar dificultada daqui a alguns anos em virtude do aquecimento global. Assim, para assegurar a produtividade da cultura e aumentar os rendimentos do país com o comércio interno e exportação da soja; faz-se necessário o lançamento de cultivares produtivas com tolerância às altas temperaturas e adaptadas às diferentes regiões de cultivo. Em virtude do exposto, este trabalho teve como objetivo geral selecionar genótipos de soja tolerantes a altas temperaturas. Uma população composta por 80 PI's de soja e 15 testemunhas foi avaliada sob condições de altas temperaturas, com experimentos conduzidos em delineamento alfa-látice com 3 repetições, instalados em campo experimental nas cidades de Teresina-PI, Piracicaba-SP e Jaboticabal-SP, na safra 2013/2014. Para a avaliação dos genótipos em cada região de cultivo, foram realizadas análises univariadas e multivariadas, e a seleção daqueles mais tolerantes às altas temperaturas, foi realizada via análises de componentes principais. Nas análises de variâncias univariadas, todos os caracteres mostraram efeitos de tratamentos significativos pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ). Pela análise de componentes principais no experimento conduzido em Teresina-PI, os caracteres que mais contribuíram para a variabilidade dos genótipos avaliados foram: data que metade da parcela atingiu o estágio R5, altura da planta na maturidade, período de granação e valor agrônômico. Em Piracicaba-SP, os caracteres que mais contribuíram para a variabilidade foram: período de granação, massa de 100 sementes e o número de dias para a maturidade. Para Jaboticabal-SP, considerou-se principalmente a altura e a produtividade com base nos resultados da análise de componentes principais.

Palavras-chave: *Glycine max*; Tolerância ao calor; Análise de componentes principais

### Abstract

Soybean is a leguminous vegetable of great importance worldwide. It is an excellent protein source that has been used for human consumption and animal feed, it has an oil of excellent quality and it is useful to the biofuels industry. Due to the development of cultivars tolerant to photoperiod, the soybean planting has expanded to regions previously not envisioned. Global warming is an important barrier for the soybean expansion to the Brazilian Cerrado, which is characterized by periods of high temperatures. Thus, the development of productive cultivars with



tolerance to high temperatures and adapted to different regions should be one objective of Brazilian Soybean Breeding Programs. In this context, the present study aimed to select high-temperatures-tolerant soybean genotypes. 80 soybean PI's and 15 checks cultivars was evaluated under high temperature conditions. The experiments were conducted in alfa-lattice design, installed in experimental field in the cities of Teresina-PI, Piracicaba-SP and Jaboticabal-SP, in the 2013/2014 season. For the evaluation of the genotypes in each region of cultivation, univariate and multivariate analyzes were performed, and the selection of the most tolerant to high temperatures was performed via principal component analyzes. In the univariate analysis of variance, all variables showed significant effects of treatments by test F ( $p \leq 0.05$ ). In the principal components analysis in the experiment conducted in Teresina-PI, the characters that most contributed to the variability of genotypes were: date in which half of the parcel reached R5 stage, height of the plant at maturity, grain filling period and agronomic value. In Piracicaba-SP, the variables that most contributed to the variability were: grain filling period, 100 grain weight and the number of days to maturity. In Jaboticabal-SP, we considered mainly the height and the yield.

Keywords: *Glycine max*; Heat tolerance; Principal component analysis

## 2.1 Introdução

A soja (*Glycine max*) é uma leguminosa de grande importância mundial, uma vez que é uma excelente fonte de proteínas (contendo aminoácidos como glutamina, glicina, lisina, prolina e peptídeos inibidores de ACE, que reduzem o risco de doenças cardiovasculares). Além disso, a espécie é detentora de grandes quantidades de micronutrientes (GU e WU, 2013; YING et al., 2013); o óleo extraído é rico em ácido esteárico, que possui excelentes propriedades na culinária e inúmeros benefícios para a saúde (RUDDLE et al., 2013), podendo inclusive substituir a gordura animal, em dietas vegetarianas (XU et al., 2012).

A soja está entre as principais culturas do mundo e os três maiores produtores são os Estados Unidos, Brasil e Argentina. Segundo dados da FAO (2013), a produção mundial de soja foi de 276.406.003 toneladas, plantadas em uma área total de 111.269.782 ha, cuja produtividade total foi de 24.841 hg/ha. A produção brasileira estimada, de acordo com dados do IBGE (2014), alcançou 86,5 milhões de toneladas, aumentando 5,8% em relação a 2013. No entanto, a expectativa que a produção brasileira ultrapassasse a dos Estados Unidos não foi concretizada; porque apesar do Brasil ter aumentado sua área plantada, a ocorrência de estresses

abióticos acarretaram em uma diminuição de produtividade dos principais estados produtores do país.

Diante do exposto, é latente que, para assegurar a produtividade da cultura frente às novas mudanças climáticas e restrição de áreas agricultáveis, faz-se necessário que o melhoramento genético da soja vise o desenvolvimento e lançamento de cultivares com alta produtividade e resistentes a estresses abióticos. Considerando que Pelegrino, Assad e Marin (2007) realizaram estudos baseados em modelos de circulação geral mostrando que a produtividade de várias culturas tende a diminuir nas regiões tropicais e subtropicais em virtude do aquecimento global e, para a soja, estes estudos de modelagem preveem que um incremento de apenas 3 °C na temperatura, ocasionará decréscimo de produtividade na ordem de 39%. Assim, a busca de genótipos tolerantes às altas temperaturas faz-se fundamental no processo de incorporação dessas características em cultivares comerciais adaptadas a regiões de clima seco e quente.

Há na literatura científica uma escassez de estudos relacionados a tolerância da soja a altas temperaturas, em virtude sobretudo da dificuldade de avaliação dos genótipos nessas condições de estresses; sendo registrados apenas poucos trabalhos com o tema. Sapra e Anale (1991) fizeram um *screening* em genótipos de soja visando selecionar PI's com tolerância ao déficit hídrico e às altas temperaturas. Os autores realizaram o experimento em casa de vegetação e induziram o déficit hídrico com polietileno glicol em três potenciais químicos distintos, para avaliar a tolerância ao déficit hídrico e aplicaram quatro temperaturas (10, 20, 50 e 100 °C) para avaliar a tolerância às altas temperaturas e encontraram que as PI's 408,155, 423.827B, 423.759 e Pershing foram tolerantes a ambos estresses e que as PI's 303.550, 393.547, 86.490 e 423.852 se mostraram tolerantes a temperaturas elevadas. No estudo de Gilbson e Mullen (1996), as plantas de soja foram expostas a temperaturas de 35 °C durante 10 horas durante o dia e foi detectado perdas de produtividade de cerca de 27%. Em nível molecular, Zhao et al. (2013) realizaram um trabalho inserindo na soja um transgene de fumo para tolerância ao calor. Os pesquisadores inseriram o transgene GmGBP1 e induziram em casa de vegetação condições de altas temperaturas, verificando que a soja transgênica apresentou boa germinação e elevada produtividade mesmo nas condições de estresses.

De acordo com Ydav et al. (2011), um desafio para o melhoramento vegetal é a avaliação de genótipos para tolerância às altas temperaturas em experimentos de campo, devido a interação de vários fatores ambientais. No entanto, segundo o autor, apesar da dificuldade, a avaliação em campo experimental pode ser uma alternativa bem sucedida na seleção de genótipos tolerantes ao calor.

Dessa forma, uma vez que não existem trabalhos na literatura que avaliem a soja para tolerância a altas temperaturas sob condições de campo experimental, o objetivo geral deste trabalho foi selecionar genótipos de soja tolerantes ao calor, utilizando essa abordagem e os objetivos específicos foram: avaliar PI's de soja em condições de altas temperaturas em três locais visando seleção das mais tolerantes; identificar fontes de tolerância a altas temperaturas em soja; selecionar com base na análise de componentes principais aqueles caracteres mais responsivos à tolerância a altas temperaturas e selecionar dentre PI's, aquelas mais produtivas para futura incorporação em programas de melhoramento altas temperaturas.

## **2.2 Material e métodos**

### **2.2.1 Escolha dos genótipos**

A população avaliada foi constituída de 80 PI's de soja detentoras de ampla variabilidade genética oriundas de 32 diferentes países, além de 15 testemunhas, compostas de cultivares comerciais e linhagens melhoradas provenientes do programa de melhoramento de soja do departamento de Genética da ESALQ, representando diferentes regiões de produção (ANEXO A).

### **2.2.2 Experimentos de campo**

Os genótipos foram avaliados em condições de campo experimental em experimentos instalados nas cidade de Teresina-PI (05°05'05"S, 42°47'05"W, 72 m), Piracicaba-SP (22°42'30"S, 47°38'30"W, 546 m) e Jaboticabal-SP (21°14'05"S, 48°17'09"W, 615,01 m), visando avaliar tolerância a altas temperaturas e respostas na produtividade.

Durante o período em que foi realizado o experimento em Teresina-PI (fevereiro/2014 a maio/2014), a temperatura média foi de 28,2 °C, com mínima de 22 °C e máxima de 34,3 °C segundo dados de uma estação meteorológica próxima ao experimento. Os dados de temperaturas máximas diários durante a condução do experimento são apresentados na Figura 1.

No experimento conduzido em Piracicaba-SP (novembro/2013 a abril/2014), a temperatura média foi de 26,2 °C, com mínima de 19,9 °C e máxima de 32,3 °C (Figura 2) e, de acordo com dados históricos meteorológicos da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, esse período foi um dos períodos em que foram registradas as maiores temperaturas na cidade de Piracicaba, desde o ano de 1917.

O experimento instalado em Jaboticabal-SP (novembro/2013 a abril/2014) teve como temperatura média 24,9 °C, com mínima de 19,8 °C e máxima de 31,1 °C segundo dados de uma estação meteorológica instalada na área experimental (Figura 3).

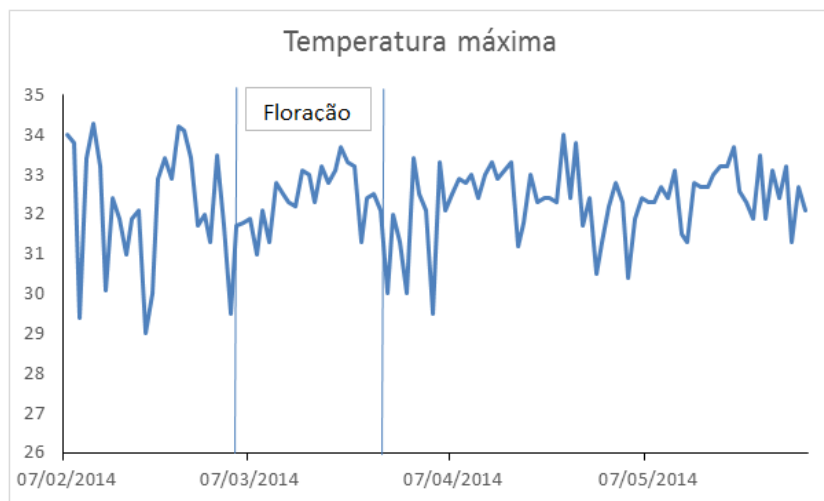


Figura 1 - Dados diários de temperatura máxima durante a condução do experimento em Teresina-PI no ano de 2014

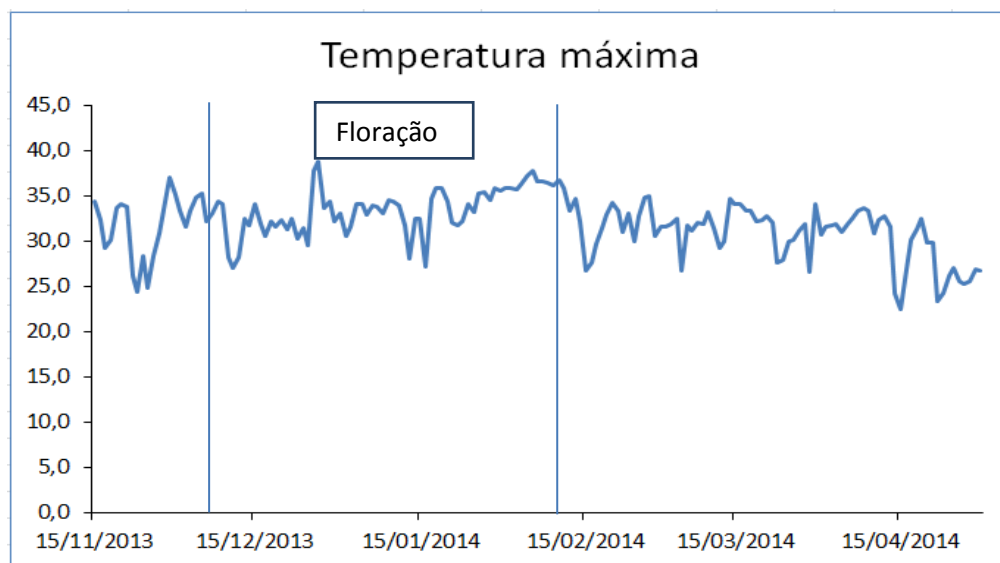


Figura 2 - Dados diários de temperatura máxima durante a condução do experimento em Piracicaba-SP na safra 2013/2014

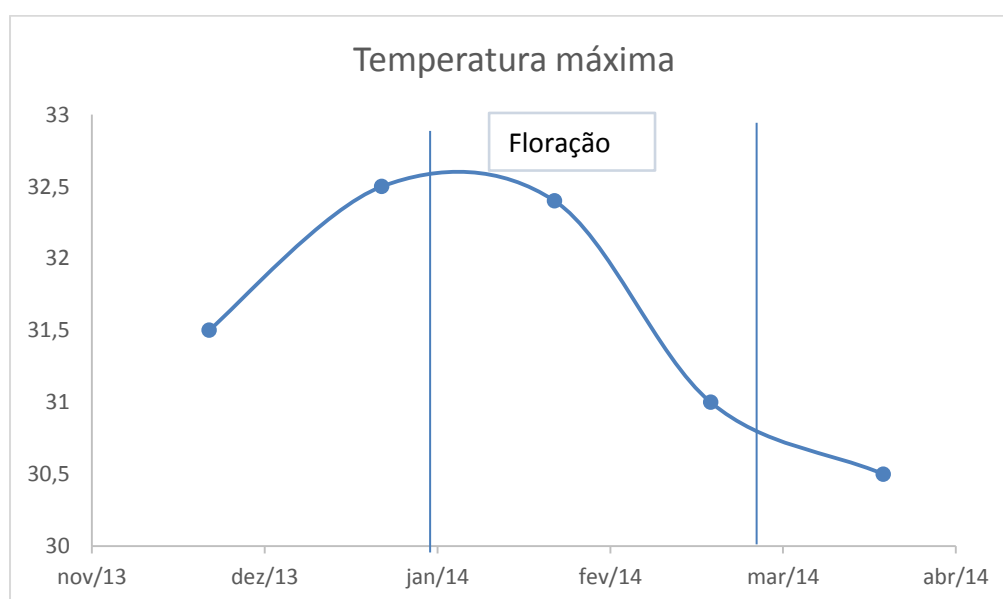


Figura 3 - Dados mensais médios de temperatura máxima durante a condução do experimento em Jaboticabal-SP na safra 2013/2014

### 2.2.3 Avaliação dos genótipos

Para avaliação dos genótipos, os experimentos foram conduzidos em delineamento alfa látice 5 x 19, com 3 repetições. As parcelas foram compostas por 4 linhas de 5 metros, sendo que a área útil colhida foi apenas as duas linhas centrais para evitar mistura. Os tratamentos culturais foram os normalmente realizados em cada

uma das três localidades, seguindo as recomendações técnicas da cultura. Os seguintes caracteres foram avaliados:

- Número de dias para florescimento (NDF) – Número de dias ocorridos entre a semeadura até que 50% da área útil da parcela atingisse o estágio R2;
- Início da granação (R5) – Número de dias da semeadura até o início do enchimento de grãos em 50% da parcela;
- Término da granação (R7) – Número de dias da semeadura até a granação completa em 50% da parcela;
- Período de granação (PEG) – Número de dias entre os estágios R5 e R7;
- Altura da planta na maturidade (APM) – Média de cinco plantas centrais da área útil da parcela, medidas do solo ao final da haste, em centímetros (cm);
- Altura de inserção da primeira vagem (AIV)- Média da altura da primeira vagem em cinco plantas centrais da área útil parcela, medidas a partir do solo;
- Valor agronômico (VA) – Escala de notas, sendo 1 para planta com baixo valor e 5 para planta com ótimo valor agronômico;
- Acamamento (AC)– Mensurado por meio de escala de notas, sendo 5 para planta totalmente acamada e 1 para planta totalmente ereta;
- Produtividade de grãos (PG) – Massa total das sementes produzidas na parcela, em gramas (g);
- Massa de 100 sementes (MCS) – Massa de 100 sementes em gramas (g).

#### **2.2.4 Análises estatísticas**

Para avaliação dos caracteres avaliados na fenotipagem, foi realizada uma análise intrabloco de variância do látice com parcelas perdidas, por meio do software SAS 9.0 (SAS, 2002); em que foi realizada uma análise de forma individual

para cada carácter, considerando os efeitos de tratamentos como fixos, de acordo com o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = m + g_i + r_j + bk(j) + e_{ijk} \quad (1)$$

Em que:

$Y_{ijk}$ : valor observado referente à parcela que recebeu o tratamento  $i$  no bloco  $k$  dentro da repetição  $j$ ;

$m$ : média geral;

$g_i$ : efeito do tratamento  $i$  ( $i=1, 2, \dots, 95$ );

$r_j$ : efeito da repetição  $j$  ( $j= 1$  e  $3$ );

$bk(j)$ : efeito do bloco  $k$  dentro da repetição  $j$ ;

$e_{ijk}$ : erro experimental associado à observação  $Y_{ijk}$ , assumindo que os erros são independentes e normalmente distribuídos.

Foram realizados os testes de homogeneidade de Bartley e normalidade de Shapiro-Wilks no SAS (SAS, 2002).

Para seleccionar os caracteres mais responsivos às altas temperaturas, foram realizadas análises de componentes principais com o programa SAS 9.0 (SAS, 2002).

Para a análise de componentes principais, partindo-se de um conjunto de  $n$  indivíduos e  $p$  variáveis. O primeiro componente principal (CP) é:

$$Z_1 = a_{11}X_1 + a_{12}X_2 + \dots + a_{1p}X_p, \quad (2)$$

sob a condição:

$$a_{11}^2 + a_{12}^2 + \dots + a_{1p}^2 = 1 \quad (3)$$

em que:

$a_{1p}$  = valor de autovetor da variável  $X_p$  no componente principal 1.

Assim, a  $Var(Z_1)$  é a máxima possível dada esta restrição em  $a_{1j}$ . O segundo CP é:

$$Z_2 = a_{21}X_1 + a_{22}X_2 + \dots + a_{2p}X_p, \quad (4)$$

sob a condição:

$$a_{21}^2 + a_{22}^2 + \dots + a_{2p}^2 = 1 \quad (5)$$

em que:

$a_{2p}$  = valor de autovetor da variável  $X_p$  no componente principal 2

com máxima  $Var(Z_2)$  e também à condição de que a correlação entre  $Z_1$  e  $Z_2$  seja zero. O terceiro CP é:

$$Z_3 = a_{31}X_1 + a_{32}X_2 + \dots + a_{3p}X_p, \quad (6)$$

sob a condição:

$$a_{31}^2 + a_{32}^2 + \dots + a_{3p}^2 = 1 \quad (7)$$

em que:

$a_{3p}$  = valor de autovetor da variável  $X_p$  no componente principal 3

com máxima  $Var(Z_3)$  e também à condição de que a correlação entre ( $Z_1$  e  $Z_3$ ) e ( $Z_2$  e  $Z_3$ ) sejam nulas. E assim por diante até o máximo de 11 componentes principais.

A análise de componentes principais foi realizada com base na matriz de correlação, a qual se constitui na matriz de covariância padronizada para média zero e variância igual a 1,0. A correlação de Pearson foi calculada por:

$$r = COV(X, Y) / \sqrt{VAR(X) VAR(Y)} \quad (8)$$

Para a seleção dos componentes que mais contribuíram para a variabilidade dos genótipos foi adotado o critério de Kaiser (1960), onde selecionou-se os componentes principais que possuem autovalores maiores que 1,0.

A análise de componentes principais pode ser utilizada na identificação das variáveis de maior e menor contribuição para variação acumulada. Os caracteres de maior contribuição são aqueles que exibem maiores autovetores nos componentes



de maior autovalor e os de menor contribuição são aqueles que exibem maiores autovetores nos componentes de menor autovalor (CRUZ e CARNEIRO, 2003).

A análise de componentes principais foi realizada separadamente para cada um dos três experimentos. A análise foi realizada a partir de dados de médias dos 95 genótipos.

## **2.3 Resultados e discussão**

### **2.3.1 Seleção de genótipos tolerantes à altas temperaturas a partir do experimento conduzido em Teresina-PI**

A temperatura adequada para a semeadura da soja é 15-22°C na emergência, 20-25 °C durante a floração e 15-22°C durante a fase de maturidade (LIU et al., 2008). Como se pode observar na Figura 1, durante todo o período do experimento, houve temperaturas mais elevadas do que o recomendado para a soja, inclusive com temperaturas bem acima dos 30°C, caracterizando desta forma a imposição de um estresse térmico durante todas as fases da cultura.

No experimento conduzido em Teresina, avaliou-se 95 genótipos, em um delineamento de alfa-látice com 3 repetições, constituído de 285 parcelas; destas apenas duas parcelas não germinaram, porém algumas parcelas apresentaram falhas no estande, o que pode ter ocorrido em funções das altas temperaturas impostas.

Em virtude da existência de parcelas perdidas, foi realizada uma análise intrablocos de látice com parcelas perdidas (Tabela 1), para cada um dos caracteres analisados: número de dias para florescimento (NDF), altura de inserção da primeira vagem (AIV), estande, início da granação (R5), término da granação (R7), período de granação (PEG), altura de plantas na maturidade (APM), acamamento (AC), massa de 100 sementes (MCS) e produtividade de grãos por parcela (PG).

Para todos os caracteres avaliados foi detectada diferença significativa pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ), indicando variação entre os genótipos estudados, o que é

interessante, uma vez que existe ampla variabilidade dentro das PI's avaliadas, assim como entre as testemunhas. Isso evidencia que a inclusão desses genótipos via cruzamentos poderá promover um incremento aos programas de melhoramento de soja visando tolerância ao calor. O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi considerado satisfatório para todos os caracteres avaliados, considerando-se principalmente um experimento conduzido em campo experimental.

Tabela 1 - Análise intrablocos das variáveis número de dias para florescimento (NDF), altura de inserção da primeira vagem (AIV), valor agrônômico (VA), início da granação (R5), término da granação (R7), período de granação (PEG), altura de plantas na maturidade (APM), acamamento (AC), massa de 100 sementes (MCS) e produtividade de grãos por parcela (PG) em um delineamento em alfa-látice para seleção de genótipos de soja visando tolerância a altas temperaturas no experimento conduzido em Teresina, PI

F.V.	G.L.	Quadrados médios									
		NDF (dias)	AIV (cm)	VA (nota 1-5)	R5 (dias)	R7 (dias)	PEG (dias)	APM (cm)	AC (nota 1-5)	MCS (g)	PG (g)
Genótipos	94	37,32*	0,05*	88,68*	131,11*	132,14*	0,02*	616,48*	1,25*	19,31*	0,32*
Bloco	54	18,50	0,03	59,12	91,43	96,01	0,02	659,59	1,17	15,84	0,15
Repetição	2	14,78	0,04	44,34	62,54	339,94	0,11	7576,80	10,75	11,34	0,37
Erro	132	7,52	0,01	17,74	18,45	37,96	0,01	79,10	0,57	9,12	0,16
C.V.		8,03	10,40	35,33	7,80	7,38	7,69	16,06	33,54	25,23	13,55
Média		34,14	13,88	2,38	55,10	83,45	28,34	55,37	2,25	11,97	708,57
R <sup>2</sup>		82,00	80,50	72,12	87,70	78,49	64,47	91,23	72,82	82,33	90,19

\*Significativo a 5% de probabilidade

Para o caráter floração, a média foi de aproximadamente 34 dias, demonstrando que alguns genótipos apresentaram uma antecipação na floração, o que pode ter ocorrido em resposta às altas temperaturas e em virtude do experimento ter sido conduzido em condições de baixas latitudes, acarretando em influências fotoperiódicas, tais como florescimento precoce (DIDONET e VITÓRIA, 2006). Vernetti (1983) frisa ainda que cultivares das regiões de alta latitude, tais como as avaliadas neste experimento, florescem muito cedo quando cultivadas nas regiões de baixa latitude, sendo necessário a incorporação de genes de período juvenil longo para promover atraso na floração.

As linhagens precoces normalmente originam plantas com porte mais baixo e também com menor inserção de primeira vagem. De acordo com Rocha (2012), quando a semeadura é realizada em regiões com dias mais curtos, a altura da planta é reduzida, havendo tendência do desenvolvimento de vagens próximas ao solo, o que também ocorreu em seu experimento conduzido em Teresina com 35 cultivares comerciais, cuja altura média de inserção de primeira vagem foi 11,22 cm, similar a média deste experimento.

Em um experimento com esse mesmo painel de PI's, Sigrist (2012) obteve a média de 71,52 dias para metade da parcela atingir o estágio de R5, valor bem superior à média deste experimento (55,10 dias), o que pode ter acontecido em consequência do adiantamento da floração e da maturação causado pelas altas temperaturas.

Neves (2011) avaliando 18 cultivares de soja em Teresina na safra 2009/2010, obteve uma média de 58,91 dias para metade da área útil da parcela alcançar o estágio R7, o que também confronta com os dados deste experimento, em que não foi observada uma antecipação da maturidade nessa ordem. Porém em comparação com um experimento de Sigrist (2012) com as PI's avaliadas em Piracicaba, observa-se que houve antecipação do R7, pois naquele experimento a média foi de 102,66 dias e nesse, de apenas 83,45 dias.

Quanto maior é a precocidade, menor será o período de granação e de acordo com Farias, Nepumuceno e Neumair (2007), as altas temperaturas na fase de enchimento de grãos contribuem para reduzir a qualidade das sementes uma vez

que prejudicam e aceleram o processo de formação de grãos. Isso pode ser demonstrado com a média de apenas 28,4 dias para o enchimento de grãos.

Board e Harvillhe (1998) afirmam que o estresse térmico pode reduzir a taxa de crescimento da soja entre os estágios de R1 a R5, o que pode também acarretar em diminuições de rendimento. Aliado às influências das altas temperaturas, a semeadura da soja em baixas latitudes também leva a uma menor altura da planta na maturidade, o que pode ser percebido pela a altura média de apenas 55,37 cm. No entanto, dos 95 genótipos obteve-se sete PI's com altura maior que 80 cm. Em relação às testemunhas, nenhuma apresentou altura acima de 80 cm, inclusive considerando-se somente as cultivares comerciais, a altura média foi de apenas 50,77 cm.

O acamamento é uma característica comum em PI's de soja, uma vez que se trata de material exótico que não foi selecionado para possuir porte ereto. De acordo com Tourino (2002), o acúmulo de plantas em alguns pontos da parcela pode provocar o desenvolvimento de plantas mais altas, menos ramificadas, com menor produção individual, diâmetro de haste reduzido e assim, tornarem-se mais propensas ao acamamento. Muitas vezes essa característica pode ser indício de má adaptação ao local de cultivo (ROCHA, 2012), o que pode ter sido expresso por algumas PI's, devido à baixa adaptabilidade à semeadura em condições de baixas latitudes.

A diminuição do tamanho da semente, e conseqüentemente do seu peso, pode ocorrer como consequência da redução da viabilidade de pólen, diminuição da produção de pólen, dificuldades do crescimento do tubo polínico e assincronia de estame e gineceu ocasionada pelo estresse térmico (PRASSAD et al., 2003; THUZAR et al., 2010). As altas temperaturas podem ainda diminuir a expansão das células, o número de células dos cotilédones e assim afetar a taxa de enchimento de grãos, resultando em peso reduzido por semente (MUNIER-JOLAIN e NEY, 1998). Além disso, temperaturas superiores a 24°C já provocam redução no peso de sementes de soja (BAKER et al., 1989); a soma de todos esses fatores, aliado àquelas características genéticas inerentes a algumas PI's de produzir sementes pequenas, podem ter contribuído para a baixa massa de cem sementes observado neste experimento, e conseqüentemente para a baixíssima produtividade média.

Segundo Thuzar et al. (2010), um aumento de apenas alguns graus já reduz significativamente a produção de soja, em decorrência da diminuição da área foliar e consequentemente da taxa fotossintética. A produtividade média dos genótipos foi considerada bem abaixo do normalmente encontrado para soja, inclusive para PI's. No entanto, destaca-se que mesmo com o estresse ocorrido, 32 PI's apresentaram uma produtividade maior que a produtividade média das testemunhas (678,15 g).

A matriz de correlações a partir dos dez caracteres avaliados encontra-se nas Tabela 2.

Conforme visualizado na Tabela 2, a maior correlação ( $r=0,90$ ) se deu entre valor agrônômico e produtividade. Correlações entre esses dois caracteres são frequentemente relatadas em soja uma vez que o número de vagens por planta é considerado ao se avaliar valor agrônômico. A segunda maior correlação obtida ( $r=0,77$ ) foi entre os caracteres número de dias para florescimento e R5 e R5 e R7. Essa correlação mostra-se positiva e forte ( $r>0,7$ ). O NDF e a data em que metade da parcela entrou em R5 no geral foi curto em ambos caracteres, indicando a precocidade relatada na literatura em consequência das altas temperaturas e baixas latitudes. A alta correlação entre número de dias para metade da parcela atingir o estágio de R5 e R7 também já foi relatada em estudos como o Sigrist (2012).

Tabela 2 - Matriz de correlação dos dados do experimento conduzido em Teresina, considerando dez caracteres: número de dias para florescimento (NDF), altura de inserção da primeira vagem (AIV), valor agrônômico (VA), início da granação (R5), término da granação (R7), período de granação (PEG), altura de plantas na maturidade (APM), acamamento (AC), massa de 100 sementes (MCS) e produtividade de grãos por parcela (PG) em um delineamento em alfa-látice para seleção de genótipos de soja visando tolerância a altas temperaturas

	NDF (dias)	AIV (cm)	VA (nota 1-5)	R5 (dias)	R7 (dias)	PEG (dias)	APM (cm)	AC (nota 1-5)	MCS (g)	PG (g)
NDF	1,00	0,44*	0,40*	0,77*	0,57*	-0,29*	0,66*	0,53*	-0,10 <sup>ns</sup>	0,37*
AIV	0,44*	1,00	0,35*	0,36*	0,29*	-0,10 <sup>ns</sup>	0,41*	0,34*	0,14 <sup>ns</sup>	0,45*
VA	0,40*	0,35*	1,00	0,47*	0,36*	-0,15 <sup>ns</sup>	-0,61*	0,50*	0,03 <sup>ns</sup>	0,90*
R5	0,77*	0,36*	0,47*	1,00	0,77*	-0,35*	0,70*	0,60*	-0,14 <sup>ns</sup>	0,44*
R7	0,57*	0,29*	0,36*	0,77*	1,00	0,39*	0,55*	0,48*	0,09 <sup>ns</sup>	0,38*
PEG	-0,29*	-0,10 <sup>ns</sup>	-0,15 <sup>ns</sup>	-0,35*	0,34*	1,00	-0,23 <sup>ns</sup>	-0,17 <sup>ns</sup>	0,35*	0,09 <sup>ns</sup>
APM	0,66*	0,41*	0,61*	0,70*	0,55*	-0,23 <sup>ns</sup>	1,00	0,67*	0,05 <sup>ns</sup>	0,56*
AC	0,53*	0,35*	0,50*	0,59*	0,48*	-0,17 <sup>ns</sup>	0,67*	1,00	-0,22*	0,46*
MCS	-0,10 <sup>ns</sup>	0,14 <sup>ns</sup>	0,03 <sup>ns</sup>	0,14 <sup>ns</sup>	0,09 <sup>ns</sup>	0,35*	0,05 <sup>ns</sup>	-0,22*	1,00	-0,01 <sup>ns</sup>
PG	0,37*	0,45*	0,90*	0,44*	0,38*	-0,09 <sup>ns</sup>	0,56*	0,46*	-0,01 <sup>ns</sup>	1,00*

\*Significativo a 5%; <sup>ns</sup> não-significativo

A análise de componentes principais realizada a partir da matriz de correlação dos dez caracteres avaliados, fornece os dados dos autovalores de cada componente principal, os valores cumulativos da variância explicada e os autovetores relativos a cada componente (Tabela 3).

Por meio do critério de Kaiser (1960), selecionam-se apenas os três primeiros componentes principais, uma vez que o CP<sub>1</sub>, CP<sub>2</sub> e CP<sub>3</sub> são os componentes apresentam autovalores superiores a 1,0. O primeiro componente principal explica 47,28% da variabilidade total dos genótipos, o segundo, 15,60% e o terceiro, 11,50%; juntos, os três componentes selecionados para a análise explicaram 74,38% do total da variabilidade dos dados obtidos em Teresina.

Pela Tabela 3, pode-se inferir que os caracteres que mais contribuíram para a variabilidade no componente principal 1 (CP<sub>1</sub>= 0,37 NDF + 0,25 AIV + 0,35 VA + 0,40 R5 + 0,33 R7 - 0,09 PEG + 0,40 APM + 0,36 AC - 0,04 MCS + 0,34 PG) foram R5 e altura da planta na maturidade. No componente principal 2 (CP<sub>2</sub>= - 0,07 NDF + 0,10 AIV + 0,04 VA - 0,08 R5 + 0,37 R7 + 0,69 PEG + 0,01 APM - 0,12 AC + 0,59 MCS + 0,06 PG), o caráter que mais contribuiu para a variabilidade dos dados foi período de granação e no terceiro componente principal (CP<sub>3</sub>= - 0,29 NDF + 0,13 AIV + 0,54 VA - 0,31 R5 - 0,40 R7 - 0,16 PEG + 0,02 APM - 0,10 AC + 0,25 MCS + 0,50 PG) foi o valor agrônômico .

Dessa forma, dentre os dez caracteres avaliados, aqueles que mais contribuíram para a variabilidade dos genótipos avaliados em condições de baixa latitude são: data que metade da parcela atingiu o estágio R5, altura da planta na maturidade, período de granação e valor agrônômico.



Tabela 3 - Valores de autovalores brutos, cumulativo e autovetores dos componentes principais obtidos por meio da análise de componentes principais dos dados do experimento conduzido em Teresina, PI

	Autovalores	Cumulativo	NDF (dias)	AIV (cm)	VA (nota 1- 5)	R5 (dias)	R7 (dias)	PEG (dias)	APM (cm)	AC (nota 1-5)	MCS (g)	PG (g)
CP <sub>1</sub>	4,73	0,4728	0,37	0,25	0,35	0,40	0,33	-0,09	0,40	0,36	-0,04	0,34
CP <sub>2</sub>	1,56	0,6288	-0,07	0,10	0,04	-0,08	0,37	0,69	0,01	-0,12	0,59	0,06
CP <sub>3</sub>	1,14	0,7438	-0,29	0,13	0,54	-0,31	-0,40	-0,16	0,02	-0,10	0,25	0,50
CP <sub>4</sub>	0,84	0,8274	0,22	0,71	-0,24	-0,01	-0,20	-0,30	-0,06	-0,10	0,40	-0,29
CP <sub>5</sub>	0,66	0,8932	-0,10	0,60	0,01	-0,22	0,02	0,37	-0,26	0,13	-0,58	0,11
CP <sub>6</sub>	0,47	0,9398	-0,22	-0,06	-0,08	-0,29	-0,21	0,11	0,32	0,79	0,16	-0,24
CP <sub>7</sub>	0,28	0,9680	0,77	-0,17	0,02	-0,45	-0,28	0,24	0,15	-0,10	-0,08	0,06
CP <sub>8</sub>	0,24	0,9917	0,28	-0,07	0,09	0,07	-0,01	-0,10	-0,80	0,43	0,25	0,07
CP <sub>9</sub>	0,08	1,0000	-0,35	-0,21	-0,72	-0,01	-0,04	0,05	0,08	0,08	0,27	0,68
CP <sub>10</sub>	0,01	1,0000	-0,01	-0,01	0,01	0,63	-0,64	0,42	0,01	-0,01	0,01	-0,01

Na Tabela 04, encontram-se as PIs que apresentaram as maiores produtividades no experimento conduzido em Teresina-PI, assim como as características expressas pelas 15 testemunhas. Dessa forma, considerando que o melhoramento genético para tolerância a estresses abióticos visa agregar em um só genótipo, não somente os alelos de tolerância propriamente ditos, como também diversos caracteres secundários agronomicamente superiores (FRITSCHÉ-NETO e BORÉM, 2011) e desses, a produtividade é o principal caráter a ser considerado pelos melhoristas; as PIs mais produtivas que deverão ser selecionadas neste ambiente.

Segundo Koti et al. (2004), para um cultivo bem sucedido da soja em regiões quentes, faz-se necessário a disponibilidade de um plantio que proporcione uma boa produtividade e sementes de alta qualidade, capazes de suportar condições climáticas adversas, geralmente presentes durante todos os estágios de desenvolvimento. Neste sentido, PI's com caracteres agronomicamente favoráveis deverão ser selecionadas para novas avaliações e posterior incorporação das mesmas em programas de melhoramento de soja em regiões de baixas latitudes e com altas temperaturas.

Tabela 4 – Características dos linhagens selecionadas como tolerantes ao calor do experimento conduzido em Teresina, PI e das testemunhas

(continua)

Nº	Nome	NDF (dias)	AIV (cm)	VA (nota 1- 5)	R5 (dias)	R7 (dias)	PEG (dias)	APM (cm)	AC (nota 1- 5)	MCS (g)	PG (g)
72	PI306712	48,00	22,00	4,50	71,67	90,00	18,33	77,33	4,33	12,02	2018,10
13	PI165524	32,00	14,33	3,67	63,33	93,00	29,67	66,67	3,33	8,30	1881,63
70	PI281911	45,67	26,33	4,00	72,33	94,33	22,00	91,67	3,33	9,82	1520,70
84	PI471904	32,67	13,00	3,50	56,33	75,00	18,67	51,33	1,67	9,62	1426,05
49	PI341254	36,00	20,33	4,00	61,33	88,67	27,33	77,33	2,67	8,17	1361,30
15	PI170889	31,67	38,33	4,00	45,67	80,33	34,67	30,67	2,00	13,54	1344,40
11	PI159927	37,00	18,33	3,33	62,00	93,00	31,00	70,33	2,00	17,39	1335,90
38	PI274454-A	36,00	14,33	4,00	53,00	85,00	32,00	81,00	3,67	10,30	1314,45
71	PI284816	40,33	21,33	3,67	71,00	94,33	23,33	79,00	2,33	12,54	1230,93
74	IAC100	34,67	11,33	2,67	56,67	83,00	26,33	47,67	2,33	10,18	804,20
75	Paranagoiana	34,33	11,33	2,00	56,33	82,00	25,67	56,00	1,67	12,93	301,00
76	A7002	34,00	11,67	1,67	63,00	94,33	31,33	58,33	2,33	15,48	299,47
77	CD215	30,00	9,67	3,00	44,33	83,33	39,00	41,00	1,33	12,82	1897,30
78	Conquista	36,00	16,00	3,00	59,00	90,33	31,33	52,00	2,00	16,49	751,30
79	Pintado	37,00	13,67	3,00	57,33	93,00	35,67	60,33	2,00	15,69	758,53
80	Sambaíba	38,00	16,67	4,00	66,00	97,00	31,00	71,00	2,33	14,70	1776,20

Tabela 4 – Características dos linhagens selecionadas como tolerantes ao calor do experimento conduzido em Teresina, PI e das testemunhas

(conclusão)

Nº	Nome	NDF (dias)	AIV (cm)	VA (nota 1- 5)	R5 (dias)	R7 (dias)	PEG (dias)	APM (cm)	AC (nota 1- 5)	MCS (g)	PG (g)
88	Vmáx	32,33	13,00	1,50	49,67	84,33	34,67	56,00	1,33	13,03	252,95
89	Potência	30,67	12,33	2,00	49,33	86,67	37,33	56,00	2,00	19,04	465,33
90	JAB00-05- 6/763D	32,33	10,00	4,00	53,67	85,67	32,00	54,00	1,00	12,36	1108,90
91	JAB00-02- 2/2J3D	35,00	10,00	1,67	58,00	89,00	31,00	48,00	2,00	11,07	216,27
92	LQ1050	35,33	9,00	2,50	54,33	84,33	30,00	49,67	2,00	12,24	656,60
93	LQ1505	33,33	39,67	1,67	55,00	85,00	30,00	41,00	2,00	12,74	259,12
94	LQ1421	35,00	9,33	1,67	54,67	86,33	31,67	47,00	2,00	13,63	426,30
95	LQ1413	32,67	10,67	1,67	55,67	93,00	37,33	49,67	2,00	18,03	289,96

### **2.3.2 Seleção de genótipos tolerantes a altas temperaturas a partir do experimento conduzido em Piracicaba-SP**

Durante a condução do experimento, houve temperaturas elevadas para a cultura, sobretudo na floração (Figura 2), o que de acordo com De Ronde et al. (2004), caracteriza que o estresse térmico imposto nesta fase se torna mais crítico.

A análise univariada do látice do experimento conduzido em Piracicaba-SP é apresentada na Tabela 5, para cada um dos caracteres analisados: período de granação (PEG), altura de plantas na maturidade (APM), valor agrônômico (VA), acamamento (AC), número de dias para maturidade (NDM), massa de 100 sementes (MCS) e produtividade de grãos por parcela (PG).

Para todos os caracteres avaliados foi detectada diferença significativa pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ), indicando variação entre os genótipos estudados em resposta às altas temperaturas e, com exceção do PEG, o  $R^2$  foi considerado alto para todos os caracteres.

Tabela 5 - Análise intrablocos das variáveis período de granação (PEG), altura de plantas na maturidade (APM), valor agrônômico (VA), acamamento (AC), número de dias para maturidade (NDM), massa de 100 sementes (MCS) e produtividade de grãos por parcela (PG) em um delineamento em alfa-látice para seleção de genótipos de soja visando tolerância a altas temperaturas no experimento conduzido em Piracicaba, SP

F.V.	G.L.	Quadrados Médios						
		PEG (dias)	APM (cm)	VA (nota 1-5)	AC (nota 1-5)	NDM (dias)	MCS (g)	PG (g)
Genótipos	94	153,50*	1953,17*	2,68*	3,27*	400,17*	36,55*	1444726,5*
Bloco	54	102,98	231,82	0,55	0,65	34,35	2,28	217836,0
Repetição	2	283,3	1270,32	0,59	0,32	322,48	0,89	462572,3
Erro	132	94,31	170,79	0,58	0,65	53,42	3,40	262223,4
C.V.		27,39	13,76	25,76	30,66	5,33	13,02	20,61
Média		35,45	94,97	2,98	2,63	137,03	14,16	1854,82
R <sup>2</sup>		66,02	92,24	83,73	85,23	91,50	91,15	86,22

\*Significativo a 5% de probabilidade

O período médio de granação foi de 35,45 dias, superior ao ocorrido no experimento de Teresina, no qual a média foi de apenas 28,34 dias. Essa diferença pode ter sido ocasionada em virtude das diferenças de latitudes entre esses dois locais, uma vez em que baixas latitudes provocam antecipação do ciclo e aceleração do período de enchimento de grãos conforme pôde ser visualizado nos dados do experimento conduzido em Teresina-PI.

A média geral de altura desse experimento foi elevada, de 94,97 cm, mais alta inclusive do que média apenas das testemunhas, a qual foi de 90,18 cm, o que demonstra o quão esse germoplasma pode ser interessante do ponto de vista do melhoramento. Esses valores foram superiores ao obtidos por Sigrist (2012), 88,90 cm, que também avaliou os mesmos genótipos, porém sem condições de altas temperaturas, de onde infere-se que algumas PI's alcançaram elevadas alturas mesmo sob estresse térmico, sendo que 16 apresentaram ainda altura maior que 1,20 cm, devendo serem melhor investigadas em estudos posteriores.

O valor agronômico médio foi de apenas 2,98, com apenas 23 PI's com médias acima de 3, o que pode ter sido em virtude de pouca adaptação do germoplasma ou também em consequência das elevadas temperaturas, nas quais os genótipos foram submetidos naquela safra.

O acamamento médio de 2,63 foi superior ao apresentado por Mulato (2009) em um estudo com esse mesmo germoplasma, que encontrou uma média de 2,41, podendo essa diferença ter sido dado em resposta às condições ambientais e/ou diferenças entre os avaliadores, uma vez que se trata de um caráter subjetivo.

O número médio de dias para a maturidade foi considerando alto, se enquadrando na categoria semi-tardio (SEDIYAMA, TEXEIRA e REIS, 2005). Esse valor é contrastante com o que a literatura traz para experimentos conduzidos sob altas temperaturas, que informa que o calor leva a uma maior precocidade. Neste caso, essa antecipação pode não ter ocorrido em virtude das características genéticas das PI's, pois algumas pertencem a grupos de maturação mais tardios.

A média da massa de cem sementes do experimento em Piracicaba-SP foi inferior à obtida por Sigrist (2012) para o mesmo material, o qual obteve MCS média de 15,20 g. Essa diferença pode ter sido em decorrência das altas temperaturas

tanto na floração, quanto na fase de enchimento de grãos, pois segundo Siddique et al. (1999), a exposição da planta ao estresse térmico pode provocar aceleração da senescência, diminuição do peso de sementes, assim como redução da produtividade; uma vez que essas condições ambientais limitam a fotossíntese, acarretando em problemas durante o desenvolvimento reprodutivo das plantas.

A produtividade média dos genótipos (1.854,82 g), apesar de ter sido superior à obtida em Teresina (708,57 g), ainda é considerada baixa, porém essa redução na produtividade já é prevista na literatura, sendo o estresse térmico apontado como uma das principais causas de redução da produtividade e perda de matéria seca em algumas culturas (GIAVENO e FERRERO, 2003).

A matriz de correlação encontra-se na Tabela 6, de onde pode-se observar que a maior correlação obtida ( $r=0,62$ ) foi entre acamamento e altura da planta na maturidade, similar ao valor obtido por Sigrist (2012), 0,77; a partir dessas mesmas PI's. No entanto, considerando-se um experimento em que foram avaliadas apenas cultivares comerciais, o valor obtido foi superior ao encontrado por Sousa et al. (2013), cuja correlação entre esses dois caracteres foi de apenas 0,42 e diferentemente dos valores obtidos por Godoi, Silveira Neto e Pinheiro (2005), em que a correlação fenotípica entre esses dois caracteres foi de -0,10 e a genotípica de -0,25.



Tabela 6 - Matriz de correlação dos dados do experimento conduzido em Piracicaba, considerando os caracteres período de granação (PEG), altura de plantas na maturidade (APM), valor agrônômico (VA), acamamento (AC), número de dias para a maturidade (NDM), massa de 100 sementes (MCS) e produtividade de grãos por parcela (PG) em um delineamento em alfa-látice para seleção de genótipos de soja visando tolerância a altas temperaturas

	PEG (dias)	APM (cm)	VA (nota 1-5)	AC (nota 1- 5)	NDM (dias)	MCS (g)	PG (g)
PEG	1,00	-0,28*	0,28*	-0,45*	0,08 <sup>ns</sup>	0,43*	0,30*
APM	-0,28*	1,00	-0,20*	0,62*	0,38*	-0,20*	0,10 <sup>ns</sup>
VA	0,28*	-0,20*	1,00	-0,38*	0,11 <sup>ns</sup>	0,29*	0,37*
AC	-0,45*	0,62*	-0,38*	1,00	0,28*	-0,53*	-0,19 <sup>ns</sup>
NDM	0,08 <sup>ns</sup>	0,38*	0,11 <sup>ns</sup>	0,28*	1,00	0,07 <sup>ns</sup>	0,27*
MCS	0,43*	-0,20*	0,29*	-0,53*	0,07 <sup>ns</sup>	1,00	0,31*
PG	0,30*	0,10 <sup>ns</sup>	0,37*	-0,19 <sup>ns</sup>	0,27*	0,31*	1,00

\*Significativo a 5%; <sup>ns</sup> não-significativo

A análise de componentes principais realizada a partir da matriz de correlação dos sete caracteres avaliados está mostrada na Tabela 7 e pelo critério de Kaiser (1960), selecionam-se apenas os dois primeiros componentes principais.

O primeiro componente principal conseguiu explicar 38% da variabilidade total dos genótipos, enquanto o segundo componente, explicou 24% e considerando-se os dois primeiros componentes, a análise explicou 62% do total da variabilidade dos dados obtidos em Piracicaba-SP.

Pela Tabela 7, pode-se inferir que os caracteres que mais contribuíram para a variabilidade no componente principal 1 ( $CP_1 = 0,43 \text{ PEG} - 0,37 \text{ APM} + 0,37 \text{ VA} - 0,52 \text{ AC} - 0,06 \text{ NDM} + 0,44 \text{ MCS} + 0,27 \text{ PG}$ ) foram o período de granação e massa de 100 sementes. No componente principal 2 ( $CP_2 = 0,13 \text{ PEG} + 0,47 \text{ APM} + 0,21 \text{ VA} + 0,23 \text{ AC} + 0,63 \text{ NDM} + 0,14 \text{ MCS} + 0,50 \text{ PG}$ ), o caráter que mais contribuiu para a variabilidade dos dados foi o número de dias para a maturidade.

Tabela 7 - Valores de autovalores brutos, cumulativo e autovetores dos componentes principais obtidos por meio da análise de componentes principais dos dados do experimento conduzido em Piracicaba, SP

	Autovalores	Cumulativo	PEG (dias)	APM (cm)	VA (nota 1-5)	AC (nota 1-5)	NDM (dias)	MCS (g)	PG (g)
CP <sub>1</sub>	2,67	0,38	0,43	-0,37	0,37	-0,52	-0,06	0,44	0,27
CP <sub>2</sub>	1,69	0,62	0,13	0,47	0,21	0,23	0,63	0,14	0,50
CP <sub>3</sub>	0,77	0,73	0,46	0,09	-0,73	0,01	0,17	0,42	-0,22
CP <sub>4</sub>	0,61	0,82	0,43	0,34	0,25	0,12	0,50	0,42	0,46
CP <sub>5</sub>	0,57	0,90	-0,50	0,02	0,24	-0,09	0,32	0,56	-0,52
CP <sub>6</sub>	0,43	0,96	0,40	0,57	0,39	0,16	-0,43	0,12	-0,37
CP <sub>7</sub>	0,25	1,00	0,03	0,45	0,10	0,79	-0,17	0,35	0,12

Tabela 8 – Características dos genótipos selecionados como tolerantes ao calor do experimento conduzido em Piracicaba, SP e das testemunhas

Nº	Nome	PEG (dias)	APM (cm)	VA (nota 1-5)	AC (nota 1-5)	NDM (dias)	MCS (g)	PG (g)
15	PI170889	42,33	59,53	3,00	1,33	134,33	16,99	3106,67
48	PI331795	36,67	108,13	3,33	3,00	135,67	14,26	2814,67
81	Dowling	42,67	81,80	2,67	2,00	148,33	15,86	2793,33
27	PI219352	36,00	78,70	4,67	1,00	123,00	13,94	2708,00
87	PI171451	45,33	55,93	3,33	2,33	142,33	15,20	2688,00
21	PI203404	45,33	92,07	3,00	2,33	92,67	15,71	2626,67
6	PI145079	42,33	47,60	3,33	1,00	130,33	21,24	2464,00
59	PI417563	31,67	146,18	3,00	2,67	141,33	12,73	2384,00
42	PI285095	39,33	118,13	3,67	2,67	143,67	15,86	2372,00
74	IAC100	36,33	86,07	4,33	1,67	137,67	12,42	3141,33
75	Paranagoiana	51,33	76,47	4,00	2,33	130,33	12,43	2714,67
76	A7002	42,00	125,60	3,00	1,33	102,33	17,48	2572,00
77	CD215	32,67	81,33	4,33	1,67	128,67	15,88	3688,00
78	Conquista	41,33	97,87	4,67	2,00	146,00	20,71	3577,33
79	Pintado	45,00	101,08	2,00	3,67	146,33	18,99	2594,67
80	Sambaíba	46,00	65,80	2,00	1,33	103,33	14,77	3389,33
88	Vmáx	51,67	107,33	4,00	1,33	136,67	17,67	2706,67
89	Potência	42,67	107,87	4,67	1,33	128,67	15,37	3697,33
90	JAB00-05- 6/763D	45,00	125,60	3,67	2,67	140,00	14,76	3154,67
91	JAB00-02- 2/2J3D	38,00	106,93	4,67	1,00	147,00	17,24	3084,00
92	LQ1050	34,00	60,40	3,00	1,67	86,33	13,59	3598,67
93	LQ1505	41,00	83,73	4,00	2,33	130,67	14,01	3396,00
94	LQ1421	38,67	86,53	4,67	2,00	136,00	9,72	2373,33
95	LQ1413	39,33	89,47	4,33	2,33	134,33	9,61	2764,00

Na Tabela 08, destacam-se as dez PIs com maiores produtividades e que poderão ser selecionadas como tolerantes no ambiente de Piracicaba-SP, assim como desempenho das 15 testemunhas como comparativo.

### **2.3.3 Seleção de genótipos tolerantes a altas temperaturas a partir do experimento conduzido em Jaboticabal-SP**

No ano de 2013, em Jaboticabal-SP, foram registradas temperaturas bem elevadas para a região, inclusive nos meses de novembro e dezembro (Figura 3), fazendo com que as linhagens estivessem sob calor, sobretudo durante a fase de floração, podendo-se dessa forma, fazer a seleção das mais tolerantes às altas temperaturas.

Na Tabela 9, apresenta-se a análise univariada dos dados para cada caráter estudado e a estatística F ( $p < 0,05$ ), em que para todos os caracteres avaliados no experimento, houve diferença significativa entre os genótipos e o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi considerado satisfatório para todos os caracteres, considerando-se um experimento conduzido em campo experimental.

Tabela 9 - Análise intrablocos das variáveis altura de plantas na maturidade (APM), altura de inserção da primeira vagem (AIV), acamamento (AC), valor agronômico (VA), período de granação (PEG), número de dias para maturidade (NDM), massa de 100 sementes (MCS) e produtividade de grãos por parcela (PG) em um delineamento em alfa-látice para seleção de genótipos de soja visando tolerância a altas temperaturas no experimento conduzido em Jaboticabal, SP

F.V.	G.L.	Quadrados médios							
		APM (cm)	AIV (cm)	AC (nota 1-5)	VA (nota 1-5)	PEG (dias)	NDM (dias)	MCS (g)	PG (g)
Genótipos	93	2264,08*	64,58*	0,30*	0,15*	258,68*	924,79*	25,71*	1530825,2*
Bloco	45	187,42	24,27	0,08	0,06	175,65	421,77	4,16	517261,2
Repetição	2	2810,82	22,90	1,05	0,04	158,57	2102,01	2,26	209578,2
Erro	132	106,88	26,29	0,07	0,07	132,96	408,89	3,81	522722,8
C.V.		12,29	40,35	18,51	14,95	27,75	16,32	17,05	43,12
Média		84,06	12,70	1,43	1,88	41,52	123,87	11,45	1676,41
R <sup>2</sup>		94,69	68,49	79,43	62,82	64,49	69,15	86,76	74,36

\*Significativo a 5% de probabilidade

Para o caráter altura de planta na maturidade, a média foi de 84,06 cm e 69 genótipos possuíram altura padrão para colheita mecanizada, a qual é considerada a partir de 60 cm de acordo com Sedyama et al. (2005), podendo serem futuramente utilizados em semeaduras comerciais; assim como a inserção de primeira vagem, cuja a média foi de 12,70 cm e a recomendada é de 10 a 11 cm.

Entre os genótipos avaliados, a maioria tinha o porte ereto, o que também é uma característica favorável do ponto de vista do melhoramento. Apenas seis PI's apresentaram uma nota média acima de 2 para acamamento e mesmo essas não apresentaram nota igual ou superior a 3, caracterizando dessa forma que todas as PI's e as testemunhas apresentaram porte ereto ou semi-ereto.

O valor agrônômico, o qual foi medido em escala de notas, no qual 5 representou genótipos com elevado número de vagens, porte ereto, altura superior a 60 cm e sem acamamento, teve uma média bastante baixa no experimento conduzido em Jaboticabal, de apenas 1,88, o que indica que esse germoplasma exótico, assim como as testemunhas avaliadas, no geral não expressaram boas características, o que poderá dificultar a introdução desses genótipos nos programas de melhoramento.

O período médio de granação dos genótipos no experimento conduzido em Jaboticabal (41,52 dias) foi bem superior ao PEG em Teresina (28,34 dias) e em Piracicaba (35,45 dias). Essa diferença grande entre Teresina e Jaboticabal pode ser em decorrência das diferenças de latitude das regiões, uma vez que em experimentos instalados em baixa latitude, os genótipos tendem a ser mais precoces. No entanto, em relação à Piracicaba, a diferença pode ter ocorrido porque naquele local, a soja foi plantada mais tardiamente, pois de acordo com a Embrapa Soja (2010), a época ideal da semeadura vai de 15/10 a 15/11, e semeaduras tardias podem aumentar o período de granação.

No entanto, apesar de ter apresentado um maior período de granação, os genótipos em Jaboticabal em média foram mais precoces, apresentando 123,87 dias para atingir a maturidade, do que em Piracicaba (137,03 dias), o que pode ter sido em virtude das diferentes datas de plantio.

A média da massa de 100 sementes foi considerada alta (11,45 g) neste experimento. Porém, considerando-se somente as PI's essa média caiu para 10,34 g. Essa característica é de grande relevância, pois de acordo com os estudos de Navarro Júnior e Costa (2002) que visava identificar a contribuição relativa dos componentes de rendimento para a produtividade final de soja, encontraram a massa de 100 sementes como uma das variáveis mais importantes para a produtividade de grãos e que deve ser levada em conta no momento da seleção.

Assim como no experimento conduzido em Piracicaba, a maior correlação (Tabela 10) obtida ( $r=0,8$ ) foi entre os caracteres acamamento e altura da planta na maturidade, de onde infere-se que quanto menor for a planta, menor a possibilidade de acamamento, conforme também já apresentado por Souza et al. (2013) que afirmam que quanto mais alta é a planta, mais tolerante essa será ao acamamento, o que também está associado a um maior potencial de rendimento de grãos de soja.

Na análise de componentes principais realizada (Tabela 11) a partir da matriz de correlação dos caracteres avaliados em Jaboticabal, selecionou-se apenas os componentes principais 1 e 2; que, juntos, explicaram 58% de toda a variabilidade dos genótipos nesse ambiente.

Pela Tabela 11, verifica-se que o caráter que mais contribuiu para a variabilidade dos genótipos no componente principal 1 ( $CP_1= 0,50 APM + 0,34 AIV + 0,38 AC + 0,24 VA - 0,26 PEG + 0,30 NDM - 0,40 MCS - 0,15 PG$ ) foi a altura da planta na maturidade e o caráter que mais contribuiu para a variabilidade no componente principal 2 ( $CP_2= 0,19 APM + 0,22 AIV -0,05 AC + 0,42 VA + 0,46 PEG + 0,30 NDM + 0,36 MCS + 0,55 PG$ ) foi a produtividade.

Tabela 10 - Matriz de correlação dos dados do experimento conduzido em Jaboticabal, considerando os caracteres: altura de plantas na maturidade (APM), altura de inserção da primeira vagem (AIV), acamamento (AC), valor agrônômico (VA), período de granação (PEG), número de dias para maturidade (NDM), massa de 100 sementes (MCS) e produtividade de grãos por parcela (PG) em um delineamento em alfa-látice para seleção de genótipos de soja visando tolerância a altas temperaturas

	APM	AIV	AC	VA	PEG	NDM	MCS	PG
	(cm)	(cm)	(nota 1-5)	(nota 1-5)	(dias)	(dias)	(g)	(g)
APM	1,00	0,58*	0,80*	0,40*	-0,30*	0,55*	-0,50*	-0,03 <sup>ns</sup>
AIV	0,58*	1,00	0,42*	0,34*	-0,18*	0,21*	-0,24*	-0,07 <sup>ns</sup>
AC	0,80*	0,42*	1,00	0,23*	-0,39*	0,45*	-0,57*	-0,23*
VA	0,40*	0,34*	0,23*	1,00	-0,01 <sup>ns</sup>	0,20*	-0,19*	0,10 <sup>ns</sup>
PEG	-0,30*	-0,18*	-0,39*	-0,01 <sup>ns</sup>	1,00	0,09 <sup>ns</sup>	0,49*	0,15*
NDM	0,54*	0,21*	0,45*	0,20*	0,09 <sup>ns</sup>	1,00	-0,30*	-0,02 <sup>ns</sup>
MCS	-0,50*	-0,23*	-0,57*	-0,19*	0,49*	-0,30*	1,00	0,42*
PG	-0,03 <sup>ns</sup>	-0,07 <sup>ns</sup>	-0,23*	0,10 <sup>ns</sup>	0,15 <sup>ns</sup>	-0,02 <sup>ns</sup>	0,42*	1,00

\*Significativo a 5%; <sup>ns</sup> não-significativo



Tabela 11 - Valores de autovalores brutos, cumulativo e autovetores dos componentes principais obtidos por meio da análise de componentes principais dos dados do experimento conduzido em Jaboticabal, SP

	Autovalores	Cumulativo	APM (cm)	IPV (cm)	AC (nota 1- 5)	VA (nota 1- 5)	PEG (dias)	NDM (dias)	MCS (g)	PG (g)
CP <sub>1</sub>	3,30	0,41	0,50	0,34	0,38	0,24	-0,26	0,30	-0,40	-0,15
CP <sub>2</sub>	1,45	0,59	0,19	0,22	-0,05	0,42	0,46	0,30	0,36	0,55
CP <sub>3</sub>	0,98	0,72	-0,17	-0,30	0,18	-0,28	0,53	0,62	-0,08	-0,38
CP <sub>4</sub>	0,80	0,83	0,16	-0,33	0,20	-0,51	-0,34	0,25	0,04	0,61
CP <sub>5</sub>	0,97	0,90	0,11	0,68	0,08	-0,60	0,12	-0,08	0,35	-0,12
CP <sub>6</sub>	0,37	0,95	0,24	-0,35	0,65	0,07	0,21	-0,43	0,38	-0,13
CP <sub>7</sub>	0,29	0,98	-0,11	-0,06	-0,30	0,21	-0,51	0,40	0,65	-0,37
CP <sub>8</sub>	0,13	1,00	-0,78	0,20	0,55	0,07	0,02	0,11	-0,08	0,16

Tabela 12 – Características dos genótipos selecionados como tolerantes ao calor do experimento conduzido em Jaboticabal, SP e das testemunhas

(continua)

Nº	Nome	APM (cm)	AIV (cm)	AC (nota 1-5)	VA (nota 1-5)	PEG (dias)	NDM (dias)	MCS (g)	PG (g)
83	PI200487	71,67	10,42	1,17	1,83	47,67	143,67	12,17	2973,97
27	PI210352	81,83	12,92	1,21	1,79	55,33	122,00	12,93	2912,20
59	PI417563	118,67	11,58	1,54	1,33	39,33	109,67	13,23	2700,03
65	PI159922	135,00	11,08	2,00	2,00	43,33	136,33	9,43	2586,09
26	PI210178	112,92	11,25	1,79	2,25	36,00	138,67	7,27	2509,68
7	PI148259	117,50	11,58	1,33	2,00	26,33	127,33	8,79	2339,52
37	PI265497	27,33	4,17	1,17	1,17	46,00	112,33	15,97	2264,83
8	PI148260	74,25	16,33	1,46	2,00	48,67	115,67	14,04	2222,82
35	PI259540	130,42	12,92	2,25	1,88	23,67	129,67	7,57	2074,74
74	IAC100	70,58	12,58	1,08	1,88	43,00	129,00	10,97	2552,38
75	Paranagoiana	70,50	11,33	1,25	1,92	49,67	128,67	10,67	2876,91
76	A7002	111,58	16,58	1,33	2,17	44,33	143,33	11,17	3316,53
77	CD215	64,67	11,75	1,08	1,92	37,00	99,67	12,80	3302,22
78	Conquista	83,83	15,00	1,17	2,00	32,67	124,33	13,83	2461,63
79	Pintado	96,25	16,33	1,50	1,83	40,67	125,33	11,83	1922,29
80	Sambaíba	93,25	13,75	1,33	2,17	47,33	138,00	10,20	3125,52
88	Vmáx	77,67	13,75	1,25	2,08	49,33	121,00	15,60	3162,94
89	Potência	87,00	14,08	1,33	2,00	44,67	113,67	14,67	4388,14
90	JAB00-05- 6/763D	105,83	18,92	1,46	2,00	52,67	121,67	13,50	2150,81
91	JAB00-02- 2/2J3D	88,50	13,75	1,29	2,04	50,33	132,33	11,77	2707,45
92	LQ1050	68,67	10,67	1,13	2,00	48,33	129,67	16,37	2767,76

Tabela 12 – Características dos genótipos selecionados como tolerantes ao calor do experimento conduzido em Jaboticabal, SP e das testemunhas

(conclusão)

Nº	Nome	APM (cm)	AIV (cm)	AC (nota 1-5)	VA (nota 1-5)	PEG (dias)	NDM (dias)	MCS (g)	PG (g)
93	LQ1505	67,00	8,08	1,21	1,83	45,00	132,00	14,60	2481,07
94	LQ1421	75,58	11,00	1,13	1,83	49,00	119,33	13,07	1973,34
95	LQ1413	58,75	8,17	1,17	1,88	48,00	125,67	12,57	3090,57

Na Tabela 12, encontram-se as PIs mais produtivas, com as respectivas características e os dados médios da 15 testemunhas utilizadas nos experimentos. Essas PIs deverão ser avaliadas em outros anos para que possam ser utilizadas em programas de melhoramento como fonte de tolerância às altas temperaturas para Jaboticabal-SP.

## 2.4 Conclusão

Portanto, para o experimento conduzido em Teresina-PI, em que as PI's foram avaliadas sob estresse térmico e baixas latitudes, os caracteres que mais contribuíram para a variabilidade dos dados, segundo resultados da análise de componentes principais, foram: data que metade da parcela atingiu o estágio R5, altura da planta na maturidade, período de granação e valor agronômico.

Os caracteres mais responsivos à tolerância a altas temperaturas no experimento de Piracicaba-SP foram o período de granação, massa de 100 sementes e o número de dias para a maturidade.

À luz da análise de componentes principais, os caracteres que mais contribuíram para a variabilidade dos dados foram altura da planta na maturidade e produtividade em Jaboticabal-SP.

## Referências

- BAKER, J.T.; ALLEN JR., L.H.; BOOTE, K.J.; JONES, P.; JONES, J. W. Response of soybean to Air temperature and carbon dioxide concentration. **Crop Science**, Madison, v. 29, p. 98-105, 1989.
- BOARD, J.E.; HARVILLE, B.G. Late-planted soybean yield response to reproductive source/sink stress. **Crop Science**, Madison, v. 38, p.763-771, 1998.
- CRUZ, C D.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa, MG: UFV, 2003. 585 p.
- CUNHA, M.C.G. **Desempenho de 79 progênies na geração F6 e correlações fenotípicas, genéticas e ambientais**. (Dissertação de Mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Agronomia (Fitotecnia), 2011.
- DALLASTRA, A.; UNÊDA-TREVISOLI, S.H.; FERRAUDO, A.S.; DI MAURO, A.O. Multivariate approach in the selection of superior soybean progeny which carry the RR gene. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 3, p. 588-597, 2014.
- DE RONDE, J.A.; CRESSC, W.A.; KRÜGERD, G.H.J.; STRASSERD, R.J.; VAN STADEN, E.J. Photosynthetic response of transgenic soybean plants, containing an *Arabidopsis* P5CR gene, during heat and drought stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, p. 1211–1224, 2004.
- DIDONET, A.D.; VITÓRIA, T.B. Resposta do feijoeiro comum ao estresse térmico aplicado em diferentes estágios fenológicos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 36, n. 3, p. 199-204, 2006.
- FAO. **FAOSTAT**. Disponível em: < <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor> > Acesso em: 02 jane.2015.
- FARIAS, J.R.B.; NEPOMUCENO, A.L.; NEUMAIR. N. **Ecofisiologia da soja**, 2007. (Circular Técnica Embrapa Londrina, 58)
- FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. **Melhoramento de plantas para condições de estresses abióticos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011. 248 p.
- GIAVENO, C.; FERRERO, J. Introduction of tropical maize genotypes to increase silage production in the central area of Santa Fe, Argentina. **Crop Breeding Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 3, p. 89–94, 2003.
- GIBSON, L.R.; MULLEN, R.E. Soybean seed quality reductions by high day and night temperature. **Crop Science**, Madison, v. 36, p. 1615-1619, 1996.
- GODOI, C.R.C.; SILVEIRA NETO, A.N.; PINHEIRO, J.B. Avaliação do desempenho de linhagens de soja, resistentes ao complexo de percevejos, cultivadas em diferentes densidades de semeadura. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 21, n. 1, p. 85-93, 2005.

GU, Y.; WU, J. LC–MS/MS coupled with QSAR modeling in characterising of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from soybean proteins. **Food chemistry**, Reading, v. 141, n. 3, p. 2682 -2690, 2013.

IBGE. **Indicadores IBGE**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística: Estatística de Produção Agrícola, 2014. 80 p.

KAISER, H.F. The application of electronic computers to factor analysis. **Educational and Psychological Measurement**, v. 20, p. 141-151, 1960.

KOTI, S.; REDDY, K.R.; KAKANI, V.G.; ZHAO, D.; REDDY, V.R. Soybean (*Glycine max* L.) Pollen germination characteristics flower and pollen morphology in response to enhanced ultraviolet-B radiation. **Annals of Botany**, Oxford, 94, p. 855-864, 2004.

LIU, X.J.; JIAN, W.; GUANGHUA, S.J.H. Soybean yield physiology and development of high- yielding practices in Northeast China. **Field Crops Research**, v. 105, p. 157-171, 2008.

MULATO, B.M. **Diversidade genética em germoplasma de soja por marcadores SSR, EST-SSR e caracteres agromorfológicos**. 2009. 81p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

MUNIER-JOLAIN, N.G.; NEY, B. Seed Growth Rate in Grain Legumes II. Seed Growth rate depends on cotyledon cell number. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 49, p.1971-1976, 1998.

NAVARRO JÚNIOR, H.N.; COSTA, J.A. Contribuição relativa dos componentes de rendimento para a produção de grãos em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 3, p. 269-274, 2002.

NEVES, J.A. **Desempenho agrônomo de genótipos de soja sob condições de baixa latitude em Teresina-PI**. (Dissertação na área de Agronomia) – Universidade Federal do Piauí. Programa de Pós-graduação em Agronomia (Produção Vegetal), 2011.

PELEGRINO, G.Q; ASSAD, E.D.; MARIN, F.R. Mudanças climáticas globais e a agricultura no Brasil. **Revista Multiciência**, Campinas, n. 8, p. 139-162, 2007.

PRASSAD, P.V.V.; BOOTE, K.J.; ALLEN, L.H.; THOMAS, J.M G. Super optimal temperatures are detrimental to Peanut (*Arachis hypogaea* L.) reproductive processes and yield at both ambient and elevated carbon dioxide. **Global Change Biology**, Malden, v. 9, p. 1775-1787, 2003.

ROCHA, R.S.; SILVA, J.A.L.; NEVES, J.A.; SEDIYAMA, T.; TEIXEIRA, R.C. Desempenho agrônomo de variedades e linhagens de soja em condições de baixa latitude em Teresina-PI. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 1, p. 154-162, 2012.

RUDDLE, P.; WHETTEN, R.; CARDINAL, A.; UPCHURCH, R.G.; MIRANDA, L. Effect of a novel mutation in a  $\Delta 9$ -stearoyl-ACP-desaturase on soybean seed oil composition. **Theoretical and applied genetics**, Heidelberg, v. 126, n. 1, p. 241-9, 2013.

SAPRA, V.T.; ANAELE, A.O. Screening Soybean Genotypes for Drought and Heat Tolerance. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Madison, v. 167, n. 2, p. 96-102, 1991.

SAS INSTITUTE. **SAS language and procedures: usage**. Version 9.0. Cary, 2002. 1 CD-ROM.

SEDIYAMA, T.; TEIXEIRA, R.C.; REIS, M.S. Melhoramento da soja. In: BORÉM A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: Editora UFV, 2005. p. 553-603.

SIDDIQUE, K.H.M.; LOSS, S.P.; REGAN, K.L.; JETTNER, R.L. Adaptation and seed yield of cool season grain legumes in Mediterranean environments of south-western Australia. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 50, p. 375–387, 1999.

SIGRIST, M.S. **Mapeamento associativo de locos relacionados à produtividade de grãos de soja**. 2012. 88 p. (Tese na área de Agronomia). Universidade de São Paulo – Programa de Pós-graduação em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), 2012.

SOUZA, C.A.; FIGUEIREDO, B.P.; COELHO, C.M.M.; CASA, R.T.; SANGOI, L. Arquitetura de plantas e produtividade da soja decorrente do uso de redutores de crescimento. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 3, p. 634-643, 2013.

THUZAR, M; PUTEH, A.B.; ABDULLAH, N.A.P.; LASSIM, M.B.M.; JUSOFF, K. The Effects of Temperature Stress on the Quality and Yield of Soya Bean [*Glycine max* L.] Merrill.]. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 2, n. 1, p. 172-179, 2010.

TOBAR-TOSSE, D.E.; CASTOLDI, R.; CANDIDO, W.S.; FERRAUDO, A.S.; CHARLO, H.C.O.; BRAZ, L.T. Caracterização de genótipos de soja-hortaliça por análise de componentes principais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 7, p. 1214-1219, 2015.

TOURINO, M.C.C.; REZENDE, P.M.; SALVADOR, N. Espaçamento, densidade e uniformidade de semeadura na produtividade e características agronômicas da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 8, p. 2002.

VERNETTI, F.J. **Soja: planta, clima, pragas, moléstias e invasoras**. Campinas: Fundação Cargill, 1983. v. 1.

VIANNA, V.F. **Estudo genético e influência de caracteres na seleção de genótipos superiores de soja**. 2013. xi, 92p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, 2013.

YADAV, S.S.; REDDEN, R.J.; HATFIELD, J L.; LOTZE-CAMPEN, H.; HALL, A.E. **Crop Adaptation to Climate Change**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2011. 632 p.

YING, L.; XIAOLAN, B.; HE, L.; JIANHUA, R.; SHUNTANG, G. Purification and characterization of calcium-binding soybean protein hydrolysates by Ca<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup> immobilized metal affinity chromatography (IMAC). **Food Chemistry**, Reading, v. 141, n. 3, p. 1645-1650, 2013.

XU, S.; WANG, S.; ZHANG, L.; YOU, C.; LI, Y. Effects of replacement of dietary fish oil with soybean oil on growth performance and tissue fatty acid composition in marine herbivorous teleost *Siganus canaliculatus*. **Aquaculture Research**, Malden, v. 43, p. 1276–1286, 2012.

WAHID, A.; GELANIA, S.; ASHRAFA, M.; FOOLAD, M.R. Heat tolerance in plants: An overview. **Environmental and Experimental Botany**, v. 61, p. 199–223, 2007.

ZHAO, L.; WANG, Z.; LU, Q.; WANG, P.; LI, Y.; LV, Q.; SONG, X.; LI, D.; GU, Y.; LIU, L.; LI, W. Overexpression of a GmGBP1 ortholog of soybean enhances the responses to flowering, stem elongation and heat tolerance in transgenic tobaccos. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 82, p. 279-299, 2013.

### 3 MAPEAMENTO ASSOCIATIVO VISANDO PRODUTIVIDADE EM SOJA AVALIADA SOB CONDIÇÕES DE ALTAS TEMPERATURAS

#### Resumo

O mapeamento associativo ou mapeamento por desequilíbrio de ligação vem se tornando uma ferramenta cada vez mais utilizada por programas de melhoramento na seleção de genótipos superiores via seleção assistida por marcadores, uma vez que não requer a formação de populações de mapeamento específicas. Esta técnica busca associações entre determinado genótipo com o fenótipo de interesse, levando em consideração o desequilíbrio entre o marcador e a característica de interesse. Em face disso, este estudo objetivou selecionar genótipos de soja tolerantes às altas temperaturas por meio de mapeamento associativos. A população de mapeamento foi constituída de 80 PI's de soja oriundas de diferentes países, além de 15 testemunhas, compostas de cultivares comerciais e linhagens melhoradas provenientes do programa de melhoramento de soja do departamento de Genética da ESALQ. Para a fenotipagem, os genótipos foram avaliados em condições de altas temperaturas em experimento instalado em Teresina-PI. Para a avaliação dos genótipos, o experimento foi conduzido em delineamento Alfa Látice 5 x 19 e avaliados quatro caracteres de interesse agrônômico: altura da planta na maturidade, valor agrônômico, massa de cem sementes e produtividade. A extração de DNA genômico foi realizada a partir de folhas jovens, segundo o protocolo de extração de Doyle e Doyle (1987) e a genotipagem foi realizada utilizando o chip da empresa Affymetrix. O desequilíbrio de ligação entre pares de marcadores foi calculado pelo coeficiente de determinação  $r^2$ , utilizando o teste de permutação rápida no software TASSEL e os pares de locos que foram considerados em DL significativo foram aqueles que apresentaram  $p$ -valor < 0,01. A análise de associação entre marcadores e o fenótipo de interesse foi realizada utilizando a abordagem de modelo linear generalizado (GLM), no qual foram inclusos dados da fenotipagem, os marcadores SNPs e informações da estrutura populacional. O  $p$ -valor < 0,001 foi utilizado para determinação do grau de ligação entre loco e marcador e para quantificação da magnitude da influência da região no fenótipo observado. Os resultados encontrados demonstram que 34,06% dos locos tiveram desequilíbrio de ligação significativo. Por meio do mapeamento associativo, foram identificadas um total de 16 associações significativas para os quatro caracteres relacionados à tolerância ao calor em Teresina-PI. Dentre as associações significativas, 4 estão correlacionadas com a altura da planta na maturidade, 4 com o valor agrônômico, 4 com a massa de cem sementes e 4, à produtividade.

Palavras-chave: *Glycine max*; Desequilíbrio de ligação; Seleção assistida por marcadores



## Abstract

Association mapping or linkage disequilibrium mapping is becoming a tool used by breeding programs for selection of superior genotypes of marker assisted selection. Association mapping does not require the formation of specific mapping populations. This method seeks associations between genotype with the interesting phenotype. Therefore, this study aimed to select soybean genotypes tolerant to high temperatures by association mapping. The mapping population consisted of 80 soybean PI's from different countries and 15 experimental checks. For phenotyping, the genotypes were evaluated under conditions of high temperatures in an experiment installed in Teresina-PI. For the evaluation of genotypes, the experiment was conducted in Alfa 5 x 19 lattice design and evaluated four agronomically important traits: height of the plant at maturity, agronomic value, 100 grain weight and yield. The extraction of genomic DNA was performed from young leaves according to the extraction protocol of Doyle and Doyle (1987) and the genotyping was carried out using the Affymetrix chip. The linkage disequilibrium was calculated by the determination coefficient  $r^2$ , using the permutation test in TASSEL software and loci pairs that were considered significant with p-value <0.01. The association analysis between markers and the phenotype of interest was performed using the generalized linear model approach (GLM), in which phenotyping data, SNPs markers and information about the population structure were included. The p-value <0.01 was used to determine the degree of binding between site and marker and to quantify the magnitude of the influence of the region in the observed phenotype. The results showed that 34.06% of the loci had significant linkage disequilibrium. For associative mapping, we have identified a total of 16 significant associations for the four traits related to heat tolerance in Teresina-PI. Among them, 4 are correlated to height of the plant at maturity, 4 with the agronomic value, 4 with the 100-grain weight and 4, to productivity.

Keywords: *Glycine max*; Linkage disequilibrium; Marker assisted selection

### 3.1 Introdução

A soja é uma das principais commodities mundiais, em virtude de suas inúmeras utilizações tanto na indústria alimentícia quanto na indústria de biocombustíveis. Segundo dados do IBGE (2014), a produção nacional da soja, recorde em 2014, alcançou 86,4 milhões de toneladas, crescendo 5,8% em relação a 2013. Esta alta foi marcada pelo incremento de área nos maiores estados produtores, especialmente no Mato Grosso, que acrescentou 677.053 hectares a sua área de soja, maior 8,5% em relação a 2013. O Paraná, segundo maior produtor nacional, apesar de também ter aumentando a área plantada em 263.035 hectares (5,5%), enfrentou problemas climáticos durante o desenvolvimento da cultura,

reduzindo, assim, o rendimento médio e a produção em 11,9% e 7,0%, respectivamente.

Considerando-se que as mudanças climáticas globais já estão afetando a agricultura, é patente a necessidade de cultivares produtivas e tolerantes a estresses abióticos, tais como as altas temperaturas, uma vez que aumentos até de 1° C já restringem as áreas agricultáveis de muitas culturas, inclusive da soja (PELEGUINO, ASSAD e MARIN, 2007).

De acordo com Bitá e Gerards (2013), o melhoramento genético para tolerância às altas temperaturas pode ser realizado da forma convencional, em que se submete os genótipos a condições de temperaturas elevadas nas diferentes fases de desenvolvimento da planta, selecionando-se aqueles mais produtivos ou com o uso de estratégias moleculares, em que as principais são a transgenia e a seleção assistida via marcadores moleculares. Uma ferramenta utilizada pelos melhoristas em busca da tolerância às altas temperaturas é o mapeamento associativo, em que se associa determinado fenótipo de interesse com QTLs, visando a seleção assistida de genótipos com as características de interesse via marcadores.

O princípio básico do mapeamento associativo consiste na decomposição de uma amostra da população sem parentesco conhecido em subpopulações homogêneas (GUPTA et al., 2005). A técnica apresenta duas abordagens: a abordagem via gene candidato, que relaciona polimorfismos em genes candidatos previamente selecionados que têm funções no controle da variação fenotípica e mapeamento associativo via genoma completo, que examina a variação genética de todo o genoma na busca de associações significativas com QTLs (ZHU et al., 2008).

No entanto, o principal problema do mapeamento associativo é a existência de populações estruturadas que podem levar a associações espúrias entre marcador e fenótipo (PRITCHARD et al., 2000b). Para contornar esse entrave, Yu et al. (2005) desenvolveram uma análise do mapeamento associativo com abordagem de modelo misto, em que utiliza a matriz de estrutura populacional e matriz de parentesco, controlando assim os erros tipo I e tipo II.

Ademais, o mapeamento associativo vem para contornar algumas deficiências do mapeamento de QTLs via análise de ligação, entre elas a necessidade de populações de mapeamento específicas; uma vez que o mapeamento associativo pode utilizar vários tipos de populações, tais como acessos de bancos de germoplasma, cultivares, coleções nucleares e genótipos selvagens, que não possuem parentesco conhecido a priori (KHAN, 2013).

Os genótipos selvagens vêm sendo consistentemente ignorados nos programas de melhoramento, uma vez que possuem caracteres desinteressantes para o agronegócio, tais como sementes pequenas, grande variação, deiscência. Em soja, as pesquisas com PI's têm focado na busca de genes relacionados à tolerância a estresses bióticos e abióticos e poucos estudos vêm sendo realizados utilizando soja selvagem para caracteres de produtividade. Hu et al. (2014) avaliaram 113 acessos de soja selvagem das regiões Sul e Nordeste da China, que foram fenotipadas para cinco caracteres relacionados à produtividade e genotipados com 85 marcadores SSR para realizar mapeamento associativo. Os autores identificaram 18 marcadores SSR associados à produtividade.

Diante do exposto, o objetivo geral deste trabalho foi selecionar marcadores relacionados à produtividade e tolerantes a altas temperaturas em soja por meio de mapeamento associativo e os objetivos específicos foram: identificar fontes de tolerância a altas temperaturas em soja e selecionar dentre PI's, aquelas mais responsivas ao calor, para futura incorporação em programas de melhoramento.

## **3.2 Material e métodos**

### **3.2.1 População de mapeamento**

A população de mapeamento foi constituída de 80 PI's de soja oriundas de diferentes países, além de 15 testemunhas, compostas de cultivares comerciais e linhagens melhoradas provenientes do programa de melhoramento de soja do departamento de Genética da ESALQ (ANEXO A).

### 3.2.2 Fenotipagem

Para avaliar a tolerância a altas temperaturas, os genótipos foram semeados em condições de campo em experimento instalado, no período compreendido de fevereiro/2014 a maio/2014, em Teresina-PI, considerada pelo Instituto Nacional de Agrometeorologia (2014) a terceira cidade com as temperaturas mais elevadas do país.

Para a avaliação dos genótipos, o experimento foi conduzido em delineamento Alfa Látice 5 x 19, com 3 repetições. As parcelas foram compostas por 4 linhas de 5 metros, sendo que foram colhidas apenas as duas linhas centrais, como área útil da parcela. Os tratos culturais foram os normalmente realizados na região, seguindo as recomendações técnicas da cultura.

Para a fenotipagem dos genótipos, foram utilizados os seguintes caracteres:

- Altura da planta na maturidade (APM) – Média de cinco plantas centrais da parcela, medidas do solo ao final da haste em cm;
- Valor agrônômico (VA) – Escala de notas, sendo 1 para planta com baixo valor e 5 para planta excelente, para a arquitetura geral das plantas na parcela;
- Produtividade de grãos (PG) – Massa total das sementes produzidas na área útil da parcela, em gramas (g);
- Massa de 100 sementes (MCS) – Massa de 100 sementes em gramas (g).

### 3.2.3 Extração de DNA e genotipagem

A extração de DNA genômico foi realizada no Laboratório de Diversidade Genética e Melhoramento da ESALQ, a partir de folhas jovens escolhidas de plantas aleatórias, segundo o protocolo de extração de Doyle e Doyle (1987).

As 79 PI's e 16 testemunhas de soja foram genotipadas utilizando um chip de SNPs desenvolvido pela empresa Affymetrix, que continha um total de 180.961 SNPs, em que 54,36 % passaram por filtragens.

### 3.2.4 Análise de associação

A análise de associação entre marcadores e o fenótipo de interesse foi realizada utilizando a abordagem de modelo linear generalizado (GLM), no qual foram inclusos dados da fenotipagem, os marcadores SNPs e informações da estrutura populacional.

O desequilíbrio de ligação entre pares de marcadores foi calculado pelo coeficiente de determinação  $r^2$ , utilizando o teste de permutação rápida no software TASSEL (BRADBURY et al., 2007). Os pares de locos que foram considerados em DL significativo foram aqueles que apresentaram  $p$ -valor < 0,01.

A estrutura genética da população de mapeamento (matriz Q), a qual informa a probabilidade que um determinado indivíduo pertença a uma subpopulação, foi obtida empregando o método bayesiano proposto por Pritchard et al. (2000a) utilizando o programa *Structure*. Para cálculo do número de subpopulações (k), foram empregadas 10 corridas independentes com k variando entre 1 a 10, modelo *no admixture*, 10 mil de *burn-in* e 100 mil repetições de MCMC e a seleção do número k mais provável foi realizada por meio dos valores de Evanno, cujo maior pico foi selecionado (EVANNO et al., 2005).

Os testes de associação entre marcadores e fenótipo foram realizados no software TASSEL pelo procedimento GLM (BRADBURY et al., 2007), no qual foram inclusos dados fenotípicos, os marcadores e matriz Q, segundo modelo estatístico que se segue:

$$Y_i = S\alpha + Q\gamma + e_i \quad (9)$$

Em que:

$Y_i$ : valor observado referente ao genótipo i;

$S\alpha$ : dados da genotipagem por meio dos marcadores SNPs;

$Q\gamma$ : matriz de estrutura populacional;

$ei$ : erro experimental associado.

O p-valor  $<0,001$  foi utilizado para determinação do grau de ligação entre loco e marcador e para quantificação da magnitude da influência da região no fenótipo observado.

### **3.3 Resultados e discussão**

#### **3.3.1 Análise do desequilíbrio de ligação**

O padrão do desequilíbrio de ligação calculado foi baseado em 6.297.225 combinações em 7.434 locos SNPs. Baseado no  $r^2$ , 34,06% tiveram desequilíbrio de ligação significativo ( $r^2 < 0,01$ ). Os valores de  $r^2$  foram relacionados com a distância genética entre os marcadores em pares de base (Figura 7), o que demonstrou que o decaimento do DL aumentou à medida que se aumentou a distância genética. O lento decaimento do DL com o mapa de distância genética observado é esperado em estudos em autógamias, onde o DL se estende a centenas de pares de bases (KHAN, 2013).

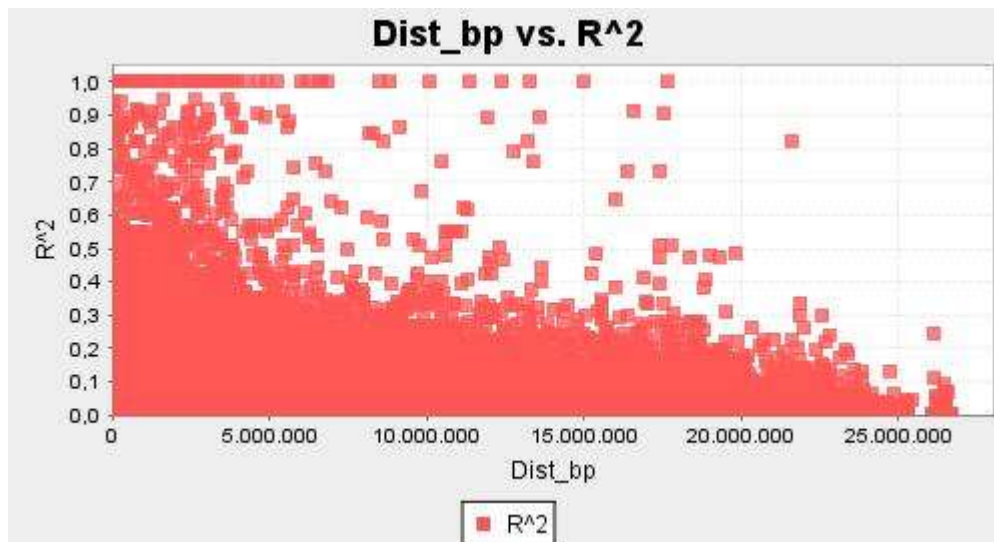


Figura 7 – Decaimento do desequilíbrio de ligação conforme a distância genética entre os pares de marcadores usados no mapeamento associativo

A análise do desequilíbrio de ligação é de grande importância para o mapeamento associativo uma vez que esta abordagem detecta principalmente associações entre o marcador e a característica de interesse indiretamente pelo DL entre ambos (WU"RSCHUM et al., 2013). A escolha da estatística  $r^2$  em detrimento do  $D'$  para a análise do DL, foi porque aquela reúne o histórico tanto de recombinação quanto de mutação da população, enquanto que a última mostra apenas o histórico de recombinação (FLINT-GARCIA et al., 2003).

### 3.3.2 Mapeamento associativo para detecção de locos relacionados a tolerância às altas e produtividade em soja

A partir do mapeamento associativo via modelo linear generalizado, foram identificadas um total de 16 associações significativas para os quatro caracteres relacionados à tolerância ao calor em Teresina-PI (Tabela 13). Dentre as associações significativas, 4 estão correlacionadas com a altura da planta na maturidade (APM), 4 com o valor agrônômico (VA), 4 com a massa de cem sementes (MCS) e 4 à produtividade (PG).

As associações relacionadas à APM estão distribuídas nos cromossomos 6, 7, 14 e 19. Em relação ao VA, foram identificadas associações significativas nos cromossomos 7, 11 e 16. Quanto à MCS, as 19 associações estão distribuídas nos cromossomos 4, 6 e 13 e quanto à produtividade, apenas nos cromossomos 11, 16 e 17 foram encontradas associações significativas com os marcadores.

Tabela 13 – Marcadores associados significativamente com quatro caracteres relacionados à tolerância ao calor

Caráter	Marcador	Crom.	Posição	Caráter	Marcador	Crom.	Posição
APM	AX-90509631	6	44119659	MCS	AX-90389614	4	44128585
APM	AX-90342778	7	11537628	MCS	AX-90354566	6	50427599
APM	AX-90469593	14	3420844	MCS	AX-90444326	13	35063263
APM	AX-90327626	19	46979367	MCS	AX-90409840	13	38706066
VA	AX-90402142	7	3354461	PG	AX-90521700	11	34930663
VA	AX-90342778	7	11537628	PG	AX-90333592	16	2712250
VA	AX-90521700	11	34930663	PG	AX-90523249	17	12874430
VA	AX-90525031	16	13424473	PG	AX-90327053	17	35263624

Um *threshold* alto (0,001) foi utilizado para detectar as associações entre marcador-caráter uma vez que o número de marcadores nesse estudo foi elevado. Hu et al. (2014) já preconizam um alto *threshold* quando se utiliza uma alta densidade de marcadores. Quando foi utilizada a correção de Bonferroni, não foi detectada nenhuma associação significativa.

A grande importância dos estudos associativos em plantas é a busca de genes associados a caracteres importantes agronomicamente, que normalmente possuem uma herança quantitativa. Para a tolerância às altas temperaturas não existe nenhum QTL identificado na base de dados para a soja (SoyBase, [www.soybase.org](http://www.soybase.org)).

De acordo com Khan (2013), estudos de associação surgiram para contornar as deficiências do mapeamento de QTLs; uma vez que ao contrário desse, o mapeamento associativo usa eventos de recombinação presentes no conjunto de genes da população, a qual pode ser uma coleção selvagem, acessos do



GeneBank, cultivares e coleções de trabalho. Dessa forma destacam-se como principais vantagens do mapeamento associativo o tipo de população que pode ser utilizada, a alta precisão do mapeamento e a possibilidade de inferência para outras populações. Porém as principais desvantagens são: custo da genotipagem e a ocorrência de efeitos de confundimento, de modo que a localização e a clonagem de genes nem sempre pode ser bem sucedida (GUPTA, RUSTIGI E KUWAL, 2005).

Para o mapeamento associativo dois marcadores são ideais: microssatélites (SSR) e polimorfismos de nucleotídeo simples (SNP). No entanto, os SNPs estão sendo preferidos em virtude da facilidade de genotipagem e por terem uma taxa de mutação inferior a dos SSR, que por serem multialélicos são mais informativos (ZHU et al., 2008).

As 16 associações foram encontradas em 14 marcadores, uma vez que AX-90342778 estava associado simultaneamente à altura de planta na maturidade e valor agrônômico e AX-90521700 estava em associação com valor agrônômico e produtividade de grãos, o que pode sugerir uma pleiotropia, nesse caso favorável à utilização pelo melhorista.

O uso da seleção assistida dessas 14 marcas pode ser particularmente interessante aos melhoristas que pretendam incrementar seus programas de melhoramento com materiais responsivos às altas temperaturas, para utilização para seleção assistida para soja submetida a condições de altas temperaturas em baixas latitudes.

Ressalta-se que em virtude da inexistência de estudos de mapeamento associativo para tolerância às altas temperaturas em soja, a abordagem escolhida, mapeamento associativo via genoma completo, foi utilizada pois explora todo o genoma na busca de associações significativas, requerendo apenas uma alta densidade de marcadores (DE RESENDE, 2008), tal como a utilizada neste estudo. Além disso, poucos trabalhos utilizando a abordagem via gene candidato têm apresentado bons resultados (ZHU et al., 2008).

Apesar da amostra não ter sido tão grande (95 genótipos) e a fenotipagem ter sido dado a partir de um único ambiente, a alta densidade de marcadores, sobretudo em regiões eucromáticas, garante a confiabilidade dos dados (HWANG et al., 2014;

SAIDOU et al., 2014; ZIEMS et al., 2014). No entanto, em virtude da falta de estudos anteriores que utilizem mapeamento para tolerância às altas temperaturas em ambientes de baixa latitude, serão necessários estudos futuros que corroborem com os resultados encontrados.

### 3.4 Conclusão

Portanto, na análise de mapeamento associativo dos 95 genótipos foram identificadas 16 associações significativas marcador-caráter para os quatro caracteres relacionados à tolerância ao calor em Teresina-PI: altura da planta na maturidade, valor agrônômico, massa de cem sementes e produtividade.

### Referências

- BITA, C.E.; GERATS, T. Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 4, p. 1-8, 2013.
- BRADBURY, P.J.; ZHANG, Z.; KROON, D.E.; CASSTEVENS, T.M.; RAMDOSS, Y.; BUCKLER, E.S. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. **Bioinformatics**, Oxford, v. 23, n. 9, p. 2633–2635, 2007.
- DE RESENDE, M.D.V. **Genética Quantitativa e Seleção no melhoramento de Plantas Perenes e Animais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2008. 330 p.
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, Irvine, v. 19, p. 11-15, 1987.
- EVANNO, G.; REGNAULT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, v. 14, p. 2611–2620, 2005.
- FLINT-GARCIA, S. A.; THORNSBERRY, J.M.; BUCKLE, E.S. Structure of linkage disequilibrium in plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 54, p. 357-374, 2003.
- GUPTA, K.P.; RUSTGI, S.; KULWAL, P.L. Linkage disequilibrium and association studies in higher plants: Present status and future prospects. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 57, p. 461–485, 2005.

HU, Z.; ZHANG, D.; ZHANG, G.; KAN, G.; HONG, D.; YU, D. Association mapping of yield-related traits and SSR markers in wild soybean (*Glycine soja* Sieb. and Zucc.). **Breeding Science**, Tokyo, v. 63, p. 441-449, 2014.

HWANG, E.; SONG, Q.; JIA, G.; SPECHT, J.E.; HYTEN, D. L.; COSTA, J.; CREGAN, P.B. A genome-wide association study of seed protein and oil content in soybean. **BMC Genomics**, Londres, v.15, n.1, p. 1-12, 2014.

IBGE. **Indicadores IBGE**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística: Estatística de Produção Agrícola, 2014. 80p.

KHAN, M.A. Association Mapping using TASSEL software. Disponível em: <http://www.extension.org/pages/62755/association-mapping-using-tassel-software#.Vgg7estViko> . Acesso em: 27 jane. 2015.

PELEGRINO, G.Q; ASSAD, E.D.; MARIN, F.R. Mudanças climáticas globais e a agricultura no Brasil. **Revista Multiciência**, Campinas, n. 8, p. 139-162, 2007.

PRITCHARD, J.K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, Washington, v. 155, n. 2, p. 945-959, 2000a.

PRITCHARD, J.K.; STEPHENS, M.; ROSENBERG, N.A.; DONNELLY, D. Association Mapping in Structured Populations. **The American Journal of Human Genetics**, Houston, n. 67, p.170–181, 2000b.

SAÏDOU, A.A.; CLOTAULT, J.; COUDERC, M.; MARIAC, C.; DEVOS, K.M.; THUILLET, A.C.; AMOUKOU, I. A.; VIGOUROUX, Y. Association mapping, patterns of linkage disequilibrium and selection in the vicinity of the PHYTOCHROME C gene in pearl millet. **Theoretical and Applied Genetics**, Heidelberg, v. 127, p.19–32, 2014.

WU"RSCHUM, T.; LANGER, S.M.; FRIEDRICH, C.; LONGIN, H.; KORZUN, V.; AKHUNOV, E.; EBMEYER, E.; SCHACHSCHNEIDER, R.; SCHACHT, J.; KAZMAN, E.; REIF, J. C. Population structure, genetic diversity and linkage disequilibrium in elite winter wheat assessed with SNP and SSR markers. **Theoretical and Applied Genetics**, Heidelberg, v. 126, p. 1477-1486, 2013.

ZHU, C.; GORE, M.; BUCKLER, E.S.; YU, J. Status and Prospects of Association Mapping in Plants. **The Plant Genome**, Madison, v. 1, n. 1, p. 5-20, 2008.

ZIEMS, L.A.; HICKEY, L.T.; HUNT, C.H.; MACE, E.S.; PLATZ, G.J.; FRANCKOWIAK, J.D.; JORDAN, D.R. Association mapping of resistance to *Puccinia hordei* in Australian barley breeding germplasm. **Theoretical and Applied Genetics**, Heidelberg, v. 127, p. 1199–1212, 2014.

**ANEXO**



## ANEXO A - Genótipos de soja avaliados nos experimentos visando tolerância às altas temperaturas

Identificação	PI	País	Identificação	PI	País
1	36906	Manchúria (China)	49	341254	Sudão
2	79861	China	50	341264	Libéria
3	84910	Coréia do Norte	51	360851	Japão
4	90251	Coréia do Sul	52	377573	China
5	133226	Indonésia	53	381660	Uganda
6	145079	Zimbábue	54	381680	Uganda
7	148259	Indonésia	55	398493	Coréia do Sul
8	148260	África do Sul	56	407744	China 12 - Centro
9	153681	El Salvador	57	407764	China 13 - Sul
10	159097	África do Sul	58	416828	Japão
11	159927	Peru	59	417563	Vietnã
12	164885	Guatemala	60	417581	EUA - S
13	165524	Índia	61	417582	EUA - S
14	166141	Nepal	62	427276	China - S
15	170889	África do Sul	63	438301	Coréia do Norte
16	171437	China	64	90577	China - NE
17	172902	Turquia	65	159922	Peru
18	189402	Guatemala	66	209839	Nepal
19	200832	Burma Mianmar	67	222546	Argentina
20	203400	França	68	240665	Filipinas
21	203404	Brasil	69	281898	Malásia
22	204333	Suriname	70	281911	Filipinas
23	204340	Suriname	71	284816	Malásia
24	205384	Paquistão	72	306712	Tanzânia
25	205912	Tailândia	73	281907	Malásia
26	210178	Taiwan	74	IAC100	Brasil
27	210352	Moçambique	75	Paranagoiana	Brasil
28	212606	Afeganistão	76	A7002	Brasil
29	215692	Israel	77	CD215	Brasil
30	222397	Paquistão	78	Conquista	Brasil (TMG)
31	222550	Argentina	79	Pintado	Brasil (TMG)
32	229358	Japão	80	Sambaíba	Brasil (EMBRAPA)
33	239237	Tailândia	81	Dowling	EUA
34	253664	China	82	Shira Nuhi (PI200526)	Japão
35	259540	Nigéria	83	Kinoshita (PI200487)	Japão
36	265491	Peru	84	Orba (PI471904)	Indonésia
37	265497	Colômbia	85	Bignam	EUA
38	274454-A	Japão	86	227687	Japão
39	274454-B	Japão	87	171451	Japão
40	274507	China	88	VMáx	Brasil
41	283327	Taiwan	89	Potência	Brasil
42	285095	Venezuela	90	JAB 00-05-6/763D	Brasil
43	297550	Rússia	91	JAB 00-02-2/J3D	Brasil
44	306702	Tanzânia	92	LQ 1050	Brasil
45	315701	EUA	93	LQ 1505	Brasil
46	322695	Angola	94	LQ 1421	Brasil
47	331793	Vietnã	95	LQ 1413	Brasil
48	331795	Vietnã			