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

Tolerância da soja à ferrugem asiática em dialelo multivariado e ambientes
contrastantes de fungicidas

Rafael Massahiro Yassue

Dissertação apresentada para a obtenção do título
de Mestre em Ciências. Área de concentração:
Genética e Melhoramento de Plantas

Piracicaba
2018

Rafael Massahiro Yassue
Engenheiro Agrônomo

Tolerância da soja à ferrugem asiática em dialelo multivariado e ambientes contrastantes de fungicidas

Orientador:
Prof. Dr. **NATAL ANTONIO VELLO**

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Genética e Melhoramento de Plantas

Piracicaba
2018

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

Yassue, Rafael Massahiro

Tolerância da soja à ferrugem asiática em dialelo multivariado e ambientes contrastantes de fungicidas / Rafael Massahiro Yassue. - - Piracicaba, 2018.

84 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. *Glycine max* 2. *Phakopsora pachyrhizi* 3. Índices de seleção para tolerância à ferrugem 4. Análise multivariada I. Título

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida.

À Universidade de São Paulo, por meio da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e do Departamento de Genética, pela oportunidade do desenvolvimento da pesquisa.

Aos professores dos Programas de Pós-Graduação em “Genética e Melhoramento de Plantas” e em “Estatística e Experimentação Agronômica” da ESALQ/USP pelas disciplinas cursadas, que diretamente contribuíram no trabalho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Natal Antonio Vello, pela orientação, apoio e ensinamentos.

A CAPES, CNPq e FAPESP pelo financiamento da pesquisa e bolsa concedida.

Aos técnicos do Departamento de Genética pela colaboração e condução dos experimentos a campo, com destaque à equipe do Laboratório de Genética Aplicada às Espécies Autógamas: Antônio Roberto Cogo, Claudinei Antonio Didoné e Marcos Custódio Nekatschalow.

Aos amigos do laboratório, Elesandro Bornhofen, Felipe Maniero Nazato, Fernando Garcia Espolador, Pedro Augusto Medeiros Barbosa e Renan Silva e Souza.

Aos colegas do Grupo de Extensão em Genética e Melhoramento de Plantas “Roland Vencovsky” (GVenck).

Aos meus pais, Rosa e Valdomiro, meus irmãos Alessandro e Patricia, pelo apoio durante toda minha vida.

A minha namorada, Diandra Achre, por todo o amor e companheirismo durante esta jornada.

SUMÁRIO

RESUMO.....	5
ABSTRACT	6
LISTAS DE FIGURAS.....	7
LISTAS DE TABELAS.....	9
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVOS	15
3. REVISÃO DE BIBLIOGRAFIA.....	17
3.1. SOJA.....	17
3.1.1. Origem	17
3.1.2. Fenologia e componentes da produtividade	18
3.1.3. Variabilidade genética.....	19
3.2. FERRUGEM DA SOJA	20
3.2.1. Taxonomia, etiologia, sintomatologia e controle	20
3.2.2. Resistência.....	22
3.2.3. Tolerância.....	23
3.3. ESTUDOS EM POPULAÇÕES SEGREGANTES.....	25
3.3.1. Análise dialética univariada	25
3.3.2. Análise dialética multivariada	26
4. MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1. HIBRIDAÇÕES.....	29
4.2. GERAÇÃO F ₁	30
4.3. GERAÇÃO F ₂	31
4.3.1. Caracteres avaliados.....	33
4.3.2. Análises estatísticas.....	35
4.3.3. Análise exploratória dos genitores	37
4.3.4. Análise da capacidade combinatória	38
4.3.5. Análises de correlações e trilha entre caracteres para cada ambiente.....	40
4.3.6. Índices de seleção para tolerância à ferrugem	41
4.3.7. Análise dialética multivariada	42
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
5.1. ANÁLISE EXPLORATÓRIA DOS GENITORES	45
5.2. ANÁLISE DIALÉTICA UNIVARIADA.....	50
5.3. ÍNDICES DE SELEÇÃO PARA TOLERÂNCIA À FERRUGEM	58
5.4. ANÁLISES DE CORRELAÇÕES E TRILHA ENTRE CARACTERES PARA CADA AMBIENTE	63
5.5. ANÁLISE DIALÉTICA MULTIVARIADA	67
6. CONCLUSÕES.....	73
REFERÊNCIAS.....	75

RESUMO

Tolerância da soja à ferrugem asiática em dialelo multivariado e ambientes contrastantes de fungicidas

A ferrugem asiática da soja é a principal doença da cultura, atacando principalmente no período reprodutivo, ocasionando a queda prematura das folhas, redução do ciclo e consequentemente queda na produtividade. As principais abordagens utilizadas para o controle desta doença são a resistência genética e a aplicação preventiva de fungicidas, porém, estas atuam selecionando patógenos mais adaptados, podendo ocasionar a quebra da resistência genética ou a insensibilidade ao fungicida. Portanto, a identificação e utilização de genótipos tolerantes é justificada, uma vez que com esta estratégia pode-se minimizar a pressão de seleção sobre o patógeno. A abordagem univariada é usualmente empregada no estudo de populações segregantes, mas esta pode não ser suficiente na identificação e seleção de genótipos com potencial para tolerância à ferrugem. Esta pesquisa propõe utilizar tanto as informações obtidas na parcela, quanto a correlação entre elas para auxiliar na escolha dos caracteres a serem utilizados na seleção indireta e para a estimação das capacidades gerais e específicas de combinação multivariada. Para alcançar os objetivos, foram utilizadas análises dialélicas uni e multivariada, índices de seleção à tolerância a estresse, análise de componentes principais, agrupamento, correlações e análises de trilha. Foram avaliados 40 cruzamentos oriundos de um dialelo parcial 4x10, na geração F₂, em dois manejos de fungicidas (com e sem controle da ferrugem). Os cruzamentos foram avaliados em experimentos delineados em blocos ao acaso, com quatro repetições organizadas em conjuntos experimentais com testemunhas comuns; experimentos com os genitores foram delineados em blocos ao acaso com três repetições e as mesmas testemunhas comuns. Verificou-se que os genitores apresentaram base genética relativamente ampla com comportamento favorável à tolerância à ferrugem e os cruzamentos apresentaram potencial produtivo similar à média nacional, mesmo em contato com a doença. O uso de notas de valor agrônomo identificou os cruzamentos mais produtivos dentro de cada manejo, sendo um valioso caráter para exclusão precoce de cruzamentos de baixo desempenho. A utilização de índices de seleção para tolerância a estresses proporcionou a identificação de cruzamentos tolerantes e adaptados às condições de manejo com e sem controle da ferrugem. Para produtividade de grãos, em ambos os ambientes de fungicidas, os maiores destaques ocorreram nos genitores V Max RR, USP 14-22.010, USP 14-22.003 e USP 14-22.008; e nos cruzamentos V Max RR x USP 14-22.009, V Max RR x USP 14-22.010 e BMX Potência RR x USP 14-22.003. A análise dialélica multivariada utilizando ideótipos permitiu a identificação dos genitores e cruzamentos mais promissores para determinados grupos de características. O genitor V Max RR proporcionou maiores efeitos aditivos para as características reprodutivas e a linhagem genitora USP 14-22.010 para as adaptativas, nos dois manejos de fungicidas. O cruzamento MSOY 7908 RR x USP 14-22.001 destacou-se para as características adaptativas e reprodutivas no manejo com controle da ferrugem. Assim, a abordagem multivariada mostrou-se promissora para a seleção de genótipos tolerantes à ferrugem da soja.

Palavras-chave: *Glycine max*; *Phakopsora pachyrhizi*; Índices de seleção para tolerância à ferrugem; Análise multivariada

ABSTRACT

Tolerance of soybean to Asian rust in multivariate diallel and contrasting environments of fungicides

Asian soybean rust is a major disease of soybean, damaging the crop mainly during the reproductive period, causing premature fall of the leaves, reduction of the cycle and consequently decrease in productivity. The main methods used for the control of this disease are genetic resistance and the use of preventive fungicides, but these act by selecting more adapted pathogens, resulting in the breakdown of genetic resistance or insensitivity to the fungicide. Therefore, the identification and use of tolerant genotypes is justified, since there is no selection pressure on the pathogen. The univariate approach is usually employed in the study of segregating populations, but may not be sufficient in identifying and selecting genotypes with potential for rust tolerance. Thus, the present work proposes to use both the information obtained in the plot and the correlation between them to assist in the selection of the traits to be used in the indirect selection and for the estimation of the general and specific capacities of the multivariate combination. In order to reach the objectives, uni and multivariate diallel analyses, stress tolerance indices, principal components analysis, clustering, correlation and path analysis were used. There were evaluated 40 crosses from a partial diallel 4x10, in the F₂ generation, in two experiments with fungicide treatments (with and without rust control) in randomized blocks design stratified in sets, with four replications; the parents were evaluated in other two experiments in randomized blocks design with three replications. It was verified that the parents presented a relatively broad genetic base with favorable tolerance to rust, and the crosses presented good productive potential, even in contact with the disease. The use of agronomic value was able to identify productive crosses within each management. The use of selection indices for stress tolerance allowed the identification of tolerant crosses and adapted to the conditions of management with and without rust control. For seed yield, in both fungicide environments, the most prominent parents were V Max RR, USP 14-22.010, USP 14-22.003 and USP 14-22.008; and the crosses were V Max RR x USP 14-22.009; V Max RR x USP 14-22.010 and BMX Potência RR x USP 14-22.003. Multivariate diallel analysis using ideotypes allowed the identification of the most promising parents and crosses for certain groups of traits. The genitor V Max RR provided greater additive effects for the reproductive traits and the experimental line USP 14-22.010 for the adaptive ones in both fungicide management. The crossing MSOY 7908 RR x USP 14-22.001 was prominent for the adaptive and reproductive characteristics in the management 1 (with rust control). Thus, the multivariate approach was promising for the selection of soybean rust tolerant crosses.

Keywords: *Glycine max*; *Phakopsora pachyrhizi*; Selection indices for rust tolerance; Multivariate analysis

LISTAS DE FIGURAS

- Figura 1.** Sintomas de ferrugem ao nível de tecido (A), planta (B) e população (C). 25
- Figura 2.** Gráfico referente às condições ambientais de precipitação (mm), temperatura média (°C) e umidade relativa do ar (%) e de doença (severidade de ferrugem %), Piracicaba-SP..... 32
- Figura 3.** Dendrograma obtido a partir da análise de agrupamentos hierárquicos utilizando as distâncias genéticas derivadas a partir das genealogias. A conexão entre os grupos foi realizada pelo método de Ward. Foram utilizadas as dez linhagens experimentais genitoras do dialelo parcial 4x10 oriundas do programa de seleção recorrente do Laboratório de Genética Aplicada às Espécies Autógamas (LGAEA), Departamento de Genética, ESALQ/USP, Piracicaba-SP..... 47
- Figura 4.** Análise de componentes principais dos 14 genitores do dialelo parcial 4x10 utilizando as variáveis: Número de dias para R5 (NDR5); Escores da área foliar (EAF); Arquitetura da planta (AP); Altura de planta na maturidade (APM); Acamamento (AC), Valor agrônomo (VA), Número de dias para a maturidade (NDM); Período de granação ou enchimento de grãos (PEG); Índice de colheita (IC); Peso de cem sementes (PCS) e Produtividade de grãos (PG) para os manejo com e sem controle da ferrugem (letras em preto e vermelho, respectivamente). A proporção acumulada da variação foi de 33,24% e 58,91% com o componente principal 1 e 2, respectivamente..... 49
- Figura 5.** Dendrograma derivado a partir da análise de agrupamentos hierárquicos utilizando as distâncias euclidianas baseadas nas 11 variáveis fenotípicas avaliadas e a conexão entre os grupos realizada pelo método de Ward. Foram analisados os 14 genitores do dialelo parcial 4x10, no manejo 1 (com controle da ferrugem), 2 (sem controle da ferrugem) e ambiente médio. 50
- Figura 6.** *Heat map* das estimativas das capacidades gerais (CGC) e específicas (CEC) de combinações oriundas do dialelo parcial 4x10 na geração F₂, para os caracteres: Altura de planta na maturidade (APM); Número de dias para R5 (NDR5); Produtividade de grãos (PG); Índice de colheita (IC); Período de enchimento de grão (PEG) para o ambiente médio..... 57
- Figura 7.** *Heat map* das estimativas das capacidades gerais (CGC) e específicas (CEC) de combinações oriundas do dialelo parcial 4x10 na geração F₂, para os caracteres: Peso de cem sementes (PCS) e número de dias para maturidade (NDM), para os manejos de fungicidas 1 e 2 (ambientes com e sem controle para ferrugem, respectivamente) e médio. 58

Figura 8. (A) Análise de componentes principais dos 40 cruzamentos oriundos do dialelo parcial 4x10 na geração F_2 utilizando as variáveis: Índice de Suscetibilidade ao Estresse (ISE); Modelo Linear (ML); Índice de Tolerância ao Estresse (ITE); Média geométrica da produtividade (MGP); Média Harmônica (MH); Manejo 1 (M1) e Manejo 2 (M2). (B) Relação dos 40 cruzamentos oriundos do dialelo parcial 4x10 na geração F_2 nos ambientes com e sem controle de ferrugem (M1 e M2, respectivamente). A linha continua descreve a equação $X = Y$, no qual os genótipos mais próximos a ela apresentam maior tolerância à ferrugem. Piracicaba-SP, ESALQ, 2016/17. A proporção acumulada da variação foi de 66,23% e 99,85% com o componente principal 1 e 2, respectivamente..... 63

Figura 9. Coeficientes de correlação de Person entre os caracteres avaliados nos manejos com controle (A) e sem controle (B) da ferrugem para os caracteres: Número de dias para R_5 (NDR5); Escores da área foliar (EAF); Arquitetura da planta (AP); Altura da planta na maturidade (APM), Acamamento (AC) e Valor agrônômico (VA) dos 40 cruzamentos oriundos do dialelo parcial 4x10. Valores de correlação superiores a 0,30 e inferiores a -0,30 foram significativos pelo teste t. 65

Figura 10. Representação gráfica do modelo de análise de trilha de cadeia dupla. As linhas continuas indicam os efeitos diretos sobre a variável dependente (Produtividade de grãos, PG), enquanto que as linhas seccionadas mostram a correlação entre as variáveis primárias (Peso de cem sementes, PCS; Índice de colheita, IC; Período de enchimento de grão, PEG). As variáveis secundárias são representadas por: Escores da área foliar (EAF); Arquitetura da planta (AP); Altura de planta na maturidade (APM), Acamamento (AC), Valor agrônômico (VA) e número de dias para maturidade (NDM). 67

Figura 11. *Heat map* das estimativas das capacidades gerais (CGC) e específicas (CEC) de combinações obtidos a partir da análise de componentes principais para as características adaptativas e reprodutivas nos manejos com (A) e sem (B) controle para a ferrugem. A direção e as cores das setas indicam o ideotipo ideal para os determinados componentes principais. 71

LISTAS DE TABELAS

- Tabela 1.** Esquema do dialelo parcial, sem recíprocos, do tipo 4 x 10 genitores, com identificação dos 40 cruzamentos com as siglas C11, C21,..., C104 e seus respectivos genitores. 30
- Tabela 2.** Principais características das dez linhagens genitoras obtidas pelo programa de seleção recorrente do Laboratório de Genética Aplicada às Espécies Autógamas (LGAEA), Departamento de Genética, ESALQ/USP, em Piracicaba-SP e das quatro cultivares utilizadas como genitoras no dialelo 4 x 10. 30
- Tabela 3.** Genealogias das linhagens experimentais genitoras obtidas pelo programa de seleção recorrente do Laboratório de Genética Aplicada às Espécies Autógamas (LGAEA), Departamento de Genética, ESALQ/USP, Piracicaba-SP. 46
- Tabela 4.** Coeficientes de parentesco entre as dez linhagens experimentais genitoras do dialelo parcial 4x10 oriundas do programa de seleção recorrente do Laboratório de Genética Aplicada às Espécies Autógamas (LGAEA), Departamento de Genética, ESALQ/USP, Piracicaba-SP. 47
- Tabela 5.** Resumo da análise de variância dialélica conjunta dos ambientes com e sem controle da ferrugem da soja (manejos de fungicidas 1 e 2, respectivamente) para os caracteres: Número de dias para R5 (NDR5); Escore da área foliar (EAF); Arquitetura da planta (AP); Altura da planta na maturidade (APM); Acamamento (AC) e Valor agrônômico (VA); envolvendo 40 cruzamentos oriundos do dialelo parcial 4x10, Piracicaba-SP, ESALQ, 2016/17. 53
- Tabela 6.** Resumo da análise de variância dialélica conjunta dos ambientes com e sem controle da ferrugem da soja (manejos de fungicidas 1 e 2, respectivamente) para os caracteres: Número de dias para maturidade (NDM); Período de granação ou enchimento de grãos (PEG); Índice de colheita (IC); Peso de cem sementes (PCS) e Produtividade de grãos (PG); envolvendo 40 cruzamentos oriundos do dialelo parcial 4x10, Piracicaba-SP, ESALQ, 2016/17. 54
- Tabela 7.** Estimativas dos componentes quadráticos para capacidade geral (ϕ_{CGCgI} e ϕ_{CGCgII}) e específica (ϕ_{CEC}) de combinação para os caracteres: Número de dias para R5 (NDR5); Escores da área foliar (EAF); Arquitetura da planta (AP); Altura de planta na maturidade (APM); Acamamento (AC); Valor agrônômico (VA); Número de dias para maturidade (NDM); Período de granação e enchimento de grãos (PEG); Índice de colheita (IC); Peso de cem sementes (PCS) e Produtividade de grãos (PG), obtidos a partir de um dialelo parcial 4x10 na geração F₂. Piracicaba-SP, ESALQ, 2016/17. 54
- Tabela 8.** Valores médios de produtividade de grãos nos manejos 1 (M1) e 2 (M2) de fungicidas e os índices de tolerância à ferrugem calculados a partir destes valores. Média geométrica da produtividade (MGP), Índice de Tolerância ao Estresse (ITE), Índice de Suscetibilidade ao Estresse (ISE), Média Harmônica (MH) e Modelo Linear (ML). 60

Tabela 9. Sumário da análise dialética multivariada (MANOVA) para os manejos com e sem controle da ferrugem, manejos 1 e 2, respectivamente). Os caracteres adaptativos referem-se a: número de dias para R5 (NDR5); escores da área foliar (EAF); arquitetura da planta (AP); altura da planta na maturidade (APM); acamamento (AC), valor agronômico (VA), número de dias para maturidade (NDM). Os caracteres reprodutivos são representados por: período de granação ou de enchimento de grãos (PEG); índice de colheita (IC); peso de cem sementes (PCS) e produtividade de grãos (PG). Piracicaba-SP, ESALQ, 2016/17 67

Tabela 10. Correlações de Pearson entre os caracteres avaliados e os componentes principais para os manejos com e sem controle da ferrugem, manejos 1 e 2, respectivamente. Os caracteres adaptativos referem-se a: Número de dias para R5 (NDR5); escores da área foliar (EAF); Arquitetura da planta (AP); Altura da planta na maturidade (APM); Acamamento (AC), Valor agronômico (VA), Número de dias para a maturidade (NDM). Estes caracteres estão correlacionados com PC1, PC2 e PC3 para o manejo 1 e PC1', PC2' PC3' para o manejo 2. Os caracteres reprodutivos são: Período de granação ou enchimento de grãos (PEG); Índice de colheita (IC); Peso de cem sementes (PCS) e Produtividade de grãos (PG), correlacionados com PC4, PC5 e PC6 para o manejo 1 e PC4', PC5'e PC6' para o manejo 2. Piracicaba-SP, ESALQ, 2016/17..... 70

1. INTRODUÇÃO

A soja é uma espécie autógama, de ciclo anual, pertencente à família Fabaceae, gênero *Glycine*, subgênero *Soja* e espécie *Glycine max* (L.) Merrill. Nos últimos 50 anos, esta cultura ganhou espaço econômico a nível global, visto que a produção mundial no ano de 2015/16 foi 313,53 milhões de toneladas (USDA, 2017). Neste período, o Brasil foi o segundo maior produtor do grão, ficando atrás apenas dos Estados Unidos, sendo Mato Grosso o estado brasileiro com maior produção (CONAB, 2016).

Atualmente, dentro da cadeia industrial da soja *commodity* (ou tipo grão ou tipo industrial), o grão é processado para a extração de óleo, o qual é utilizado principalmente para uso alimentar, em produtos industrializados como p.ex. biscoitos, bolos, pães, massas salgadas e lecitina. Outra porção é empregada para a produção de biodiesel. Por fim, o farelo é utilizado para a alimentação animal, nas formulações de rações para ruminantes e monogástricos. Essa grande utilização no mercado e alto valor comercial se devem principalmente ao seu valor nutritivo, devido à combinação favorável de elevados teores de proteína e óleo.

A evolução da demanda e a competição internacional exigem avanços científicos para aumento da produtividade e redução dos custos de produção. Por isso, os programas de melhoramento genético constituem uma importante ferramenta para incremento das características de interesse econômico, tais como o aumento da produtividade e os seus componentes, além da resistência e tolerância a estresses biótico e abiótico.

Trabalhos sugerem que a base genética da soja no Brasil é muito estreita, em razão do número pequeno de ancestrais participantes das genealogias das cultivares (Wysmierski e Vello, 2013). Nesse cenário, a seleção recorrente se mostra como um método importante dentro de um programa de melhoramento, uma vez que possui eficiência comprovada, aumentando a concentração de alelos favoráveis durante os ciclos sucessivos. Paralelamente, pode-se incorporar variabilidade genética, pela introdução de genitores diversos em cada ciclo.

Com os avanços na biotecnologia, plantas geneticamente modificadas se tornaram realidade no campo. No ano agrícola de 2015/16, 93,4% das lavouras de soja, milho e algodão eram ocupadas por genótipos transgênicos (Céleres, 2016). Um dos principais eventos foi a inserção do gene CP4 EPSPS (gene RR), que tornou a soja resistente ao herbicida Glifosato

(Windels et al., 2001). Como resultado, ocorreu uma transformação do sistema de manejo da cultura, principalmente devido à redução do número de aplicações e utilização de herbicidas menos tóxicos (Duke; Powles, 2008), diminuindo custos (Steinmann et al., 2012) e minimizando perdas devido à competição com plantas daninhas (Gianessi, 2005).

Na cultura da soja no Brasil, a principal doença é a ferrugem da soja, também conhecida como ferrugem asiática da soja. Esta doença é causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, um parasita obrigatório e biotrófico que em condições ideais pode causar perdas de até 80% (Cruz et al., 2012). No Brasil, a ferrugem da soja ocasionou aumento do custo de produção, devido à necessidade de aplicações de fungicidas, diminuição da produtividade e consequentemente redução dos lucros (Araujo e Vello, 2010).

A utilização de cultivares com resistência vertical e a aplicação de fungicidas levaram a um aumento na pressão de seleção favorecendo a ocorrência de patótipo de *P. pachyrhizi* resistentes aos genes *Rpp* da soja e aos principais fungicidas registrados (Godoy et al., 2016; Paul et al., 2013). Como uma alternativa de controle, a tolerância genética pode ser utilizada. Sua principal vantagem reside na minimização da pressão de seleção sobre o patógeno, evitando a ocorrência de raças capazes de superar a tolerância (Roy et al., 2000). Dessa forma, faz-se necessário o melhoramento de plantas que explore a tolerância à ferrugem, visando o desenvolvimento de cultivares que além de possuir caracteres agronômicos de interesse possam produzir satisfatoriamente, mesmo em contato com o fungo.

O programa de melhoramento da soja inicia-se pelo planejamento e hibridações dos genitores, comumente por meio de cruzamentos dialélicos. As estimativas das capacidades gerais (CGC) e específicas (CEC) de combinação fornecidas pelo dialelo, permitem estimar as variâncias devidas aos efeitos aditivos e não aditivos dos genes, respectivamente, possibilitando planejar a melhor estratégia de melhoramento (Griffing, 1956). Vários estudos têm empregado o esquema dialélico para estimar a tolerância a estresses bióticos (Aguado et al., 2008; Carr et al., 2006) e abióticos (Badu-Apraku et al., 2011; Conceição et al., 2009).

A desvantagem desta abordagem é a avaliação isolada de cada variável, impossibilitando os estudos das correlações entre elas. Como solução, pode-se utilizar o dialelo multivariado, capaz de estudar as várias informações obtidas em uma parcela e a identificação de genitores e cruzamentos que contribuam mais para a seleção de caracteres favoráveis.

Diante disso, para obter cultivares produtivas em condições favoráveis ao desenvolvimento da ferrugem, é necessário identificar e selecionar as progênies mais tolerantes ao mesmo tempo que se amplia a base genética dos cruzamentos, além da utilização das correlações entre as variáveis, possibilitando ganhos de seleção a médio e longo prazos.

2. OBJETIVOS

O objetivo desta pesquisa é estudar a reação à ferrugem de plantas F_2 de cruzamentos oriundos de um dialelo parcial 4×10 , em ambientes contrastantes nos manejos da ferrugem com fungicidas. Propõem-se também uma abordagem multivariada, com o objetivo de determinar as características que contribuem para a tolerância e identificar os genitores e cruzamentos mais promissores, além da utilização de índices de estresses para distinguir os cruzamentos mais tolerantes.

3. REVISÃO DE BIBLIOGRAFIA

3.1. Soja

3.1.1. Origem

Hipóteses sugerem que durante o processo de evolução da soja ocorreram dois grandes eventos de duplicação genômica, há aproximadamente 58 e 13 milhões de anos. O primeiro entre o surgimento das famílias Fabaceae e Papilionoideae. Posteriormente, um segundo evento de alopoliploidia, entre duas espécies, provavelmente extintas, cada uma com conjunto cromossômico $2n = 20$, originou o gênero *Glycine* com $2n = 40$ cromossomos (Gill et al., 2009; Schmutz et al., 2010).

O gênero *Glycine* possui os dois subgêneros *Glycine* e *Soja*. O subgênero *Soja* consiste de apenas duas espécies, ambas anuais, a soja cultivada [*G. max* (L.) Merr.] e seu ancestral, a soja silvestre *G. soja* Sieb. & Zucc. (Wang et al., 2012); essa última foi domesticada no leste da Ásia e as duas espécies coexistiram por cerca de 5000 anos na China (Xu et al., 2002; Wang et al., 2012). Análises genéticas das populações indicaram que os genitores das cultivares modernas originaram-se no norte e no centro da China, e de lá se dispersaram para outras regiões, com incremento de outras características (Wang et al., 2016). A espécie *G. soja* é uma importante fonte de variabilidade genética, dentro de um programa de melhoramento, pois o seu cruzamento com *G. max* pode resultar em híbridos férteis (Stupar, 2010).

A soja atual é um paleopoliplóide com o número básico de cromossomos $x = 20$ ($2n = 40$). Citogeneticamente, ela se comporta como uma espécie diploide (Walling et al., 2006). Em 2010, a soja teve seu genoma completo sequenciado, com tamanho de 1,1 gigapares de bases e 46.430 genes preditos, dos quais 448 são altamente relacionados à espécie e cerca de 57% do seu genoma é composto por sequências ricamente repetitivas (Schmutz et al., 2010).

O primeiro relato de cultivo da soja no Brasil foi em 1882, no estado da Bahia. Na ocasião, foram testadas linhagens de soja introduzidas de outros países. No mesmo ano, realizaram-se os primeiros estudos em São Paulo, na Estação Agronômica de Campinas, atual Instituto Agronômico de Campinas (IAC) (Bonato e Bonato, 1987). Trabalhos clássicos relataram que até meados da década de 60, o seu cultivo se restringia ao estado do Rio Grande do Sul e apenas em 1968, a expansão ocorreu nos estados de Santa Catarina, Paraná,

São Paulo, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e Goiás (Toledo et al., 1990). A introdução de genes de período juvenil longo possibilitou o cultivo da soja em todo o Brasil, pois sem esses genes, em regiões de latitudes baixas (0 a 15°), as plantas ficavam com estatura menor e com produtividade reduzida (Spehar, 1995).

3.1.2. Fenologia e componentes da produtividade

A utilização de uma linguagem unificada, precisa, objetiva e universal na descrição dos estádios de desenvolvimento de uma cultura é importante, pois facilita a comunicação entre os diversos públicos que estão envolvidos nos estudos da cultura da soja (Farias et al., 2007). As principais metodologias de descrição fenológica para a cultura da soja foram apresentadas por Fehr e Caviness (1977) e Ritchie; Hanway; Thompson (1985), neste último artigo, os autores subdividiram o estágio R5 em cinco subestágios de granação.

É importante ressaltar que a cultura apresenta exigências específicas de acordo com o seu estágio fenológico. A necessidade hídrica da soja varia de acordo com a idade da planta, aumentando conforme a planta cresce, ocorrendo o pico entre a floração e a granação (7 a 8mm dia⁻¹), precisando de 450 a 800 mm ciclo⁻¹, dependendo das condições ambientais e do manejo. Temperaturas em torno de 20°C e 30°C são consideradas ideais e o fotoperíodo adequado é variável de acordo com a cultivar, havendo algumas mais e outras menos sensíveis e, assim, a sua utilização irá depender diretamente da latitude da área cultivada (Farias et al., 2007).

Os estudos dos componentes da produtividade e das correlações entre eles são justificados pela baixa herdabilidade dos caracteres (Ghodrati, 2013). Dessa forma, durante o processo de seleção, objetiva-se escolher populações baseadas não exclusivamente na produtividade, mas em caracteres que possuam correlações com ela. Estas podem possuir natureza genética, fenotípica e ambiental, porém apenas a primeira possui importância direta para o melhoramento, podendo a genética ser causada pela ocorrência de pleiotropia e ou ligação gênica. (Cruz et al., 2012).

Trabalhos sugerem que durante o processo de melhoramento da soja ocorreram alterações em algumas características, com consequência no ganho de produtividade. Os componentes que mais influenciaram foram o aumento do número de sementes por planta, número de legumes (vagens) e massa de grãos (peso de cem sementes). Incremento da taxa

de fotossíntese, aumento de massa seca da planta e o aumento do índice de colheita também influenciaram positivamente, assim como a redução do índice de área foliar (Jin et al., 2010).

3.1.3. Variabilidade genética

A soja, desde a sua domesticação até os dias atuais, sofreu três efeitos de gargalo (*"bottleneck" effect*), com consequentes perdas de variabilidade genética: o primeiro ocorreu durante a domesticação na Ásia, com a obtenção de cultivares *landraces*; o segundo pela introdução das *landraces* no cultivo na América do Norte; e, o terceiro pelo intenso trabalho de melhoramento dos últimos 75 anos. Desses, o que mais restringiu a diversidade genética foi a domesticação, reduzindo-a pela metade e causando a perda de cerca de 81% dos alelos raros (Hyten et al., 2006).

No ano agrícola de 1983/1984, Hiromoto e Vello (1986), ao examinarem 74 cultivares de soja recomendadas para o Brasil, encontraram que apenas 11 ancestrais contribuíram com genes para 89% do conjunto gênico das cultivares. Em um estudo mais recente, Wysmierski e Vello (2013), analisaram a genealogia de 444 cultivares brasileiras de soja e estimaram suas bases genéticas e observaram 60 ancestrais comuns, desses, os quatro que mais contribuíram (CNS, S-100, Roanoke e Tokyo) correspondem a 55,3% da base genética. Segundo os mesmos autores, apesar do aumento do número de genitores, não ocorreu incremento na base genética das cultivares de soja nas últimas décadas, pois os principais ancestrais permaneceram os mesmos nos 25 anos decorridos entre os dois estudos.

A seleção recorrente pode ser utilizada para ampliar a variabilidade genética dentro de um programa de melhoramento, pois esta tem como objetivo concentrar alelos de interesse por meio de cruzamentos múltiplos entre um número relativamente alto de genitores, com duas ou três gerações de recombinação e avanço de endogamia (Vello; Nazato, 2017). Também é considerada como sendo um sistema de seleção cíclica de uma população, no qual os melhores indivíduos irão participar como genitores da geração seguinte (Bernardo, 2010). O método permite introduzir genótipos de programas externos, ampliando assim a variabilidade genética e possibilitando ganhos genéticos (Rezende et al., 2014).

Diversos trabalhos de melhoramento de soja têm utilizado a seleção recorrente para modificar caracteres quantitativos. Feng et al. (2004), utilizaram a metodologia para aumentar

o teor de óleo e observaram um incremento de $1,1 \pm 0,2$ gramas de óleo por kg de grãos por ciclo de seleção recorrente. Trabalhos de introdução de genótipos exóticos e não adaptados em um programa de melhoramento mostram que o ganho médio por ciclo de seleção recorrente pode chegar até $567 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ciclo}^{-1}$, enquanto outras características foram reduzidas, como ciclo e acamamento (Posadas et al., 2014).

3.2. Ferrugem da soja

3.2.1. Taxonomia, etiologia, sintomatologia e controle

A taxonomia da ferrugem é descrita como: *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd), Domínio Eukaryota, Reino Fungi, Filo Basidiomycota, Ordem Uredinales, Classe Urediniomycetes, Família Phakopsoraceae e Gênero *Phakopsora* (Goellner et al., 2010).

No ano de 1994, as perdas econômicas por conta da ferrugem eram registradas apenas na China e na Indonésia, somando US\$ 253.700,00 anuais (Wrather et al., 1997). No ano agrícola de 2013/14, apenas no Brasil, estima-se que a ferrugem teve um custo em fungicidas de 2,2 bilhões de dólares (Godoy et al., 2016). Estes dados indicam o rápido avanço da doença no mundo e sua importância econômica e social, devido ao aumento do custo de produção e redução na produção de alimento.

O processo de infecção é dependente do molhamento foliar, havendo necessidade mínima de seis horas, com o ideal variando de 10 a 12 horas. A penetração ocorre de forma direta pela cutícula via apressório, com temperaturas favoráveis entre 15 e 29° C (Almeida et al., 2005). Após a infecção, são formados os urediósporos dentro de cinco a oito dias e o número de ciclos da doença depende da fase da infecção no hospedeiro (Goellner et al., 2010).

Os sintomas iniciais são pequenas lesões castanhas, restritas pelas nervuras das folhas localizadas no terço médio inferior da planta. Após cinco a oito dias, é possível observar as pústulas da ferrugem (urédias); progressivamente, as urédias adquirem cor castanho-claro a castanho-escuro, abrem-se em pequenos poros, liberando ou expelindo os urediósporos (Goellner et al., 2010). As urédias que já esporularam, são visivelmente claras e estão abertas, diferindo assim da pústula bacteriana. A dispersão é realizada principalmente pelo vento. A diminuição da produtividade decorrente da ferrugem se deve à queda prematura das folhas,

abortamento das flores e vagens e deficiência na granação. Quanto mais cedo ocorrer a desfolha, menor os tamanhos dos grãos e, conseqüentemente, maior será a redução na produtividade e a queda da qualidade de semente (Almeida et al., 2005).

Apesar da elevada diversidade genética da ferrugem da soja, não existe relato na literatura de esporos sexuais na natureza. Esporos assexuais do tipo urédia são o meio exclusivo de propagação e dispersão da doença e raramente são encontrados esporos do tipo teliósporos (Hartman et al., 2011). Esta diversidade pode estar relacionada a sua origem, que no Brasil, surgiu em múltiplos, independentes e distantes eventos de dispersão (Freire e Oliveira, 2008) e pelo seu genoma, que ainda não foi completamente sequenciado, porém estimativas sugerem que o tamanho mínimo do haplótipo seja de 500 mega pares de bases (Loehrer et al., 2014). Genomas grandes de organismos eucariotos unicelulares possuem a vantagem de terem quantidade de DNA extra, proporcionando oportunidades de inovação genética, tais como mutação, especiação de genes duplicados e evolução da sequência reguladora em grandes íntrons (Hartl e Clark, 2010)

O fungo *P. Pachyrhizi* possui a capacidade de completar seu ciclo em diversas espécies. Ono; Buriticá; Hennen (1992) observaram que o patógeno é capaz de esporular em 31 espécies, em 17 gêneros da família Fabaceae. Em um experimento com inoculação em casa de vegetação, Slaminko et al. (2008) constataram que a ferrugem era capaz de se reproduzir em 65 espécies de 25 gêneros diferentes, dos quais 12 dos gêneros não haviam sido reportados como hospedeiros.

Hartman et al. (2011), em um levantamento mais recente, observaram que existem 150 espécies de 53 gêneros diferentes. Esses resultados indicaram que os elevados números de hospedeiros alternativos podem servir como “ponte verde” durante o período em que não há plantas de soja no campo. Por esta razão, no Brasil, desde o ano de 2006, os estados adotam o vazio sanitário, que é um período de 60 a 90 dias, nos meses de julho a setembro, no qual não é permitido o cultivo de soja, com o objetivo de quebrar o ciclo de multiplicação do fungo e retardar o início da epidemia na safra seguinte (Godoy et al., 2015). No estado do Paraná, a Agência de Defesa Agropecuária do Paraná (ADAPAR) expediu a portaria Nº 193, de 06 de outubro de 2015, proibindo a soja de segunda safra, delimitando que toda área de cultivo deve estar colhida ou dessecada a partir do dia 15 de maio.

Atualmente, são registrados 70 fungicidas para o controle da ferrugem (Agrofit, 2017), porém em um teste realizado pela EMBRAPA com os 17 fungicidas mais utilizados para

o controle e alguns produtos não registrados a serem lançados, observou-se que apenas três possuíam taxa de controle superior a 70%, dos quais apenas um possui registro para a cultura. Esses resultados indicaram que a utilização de fungicidas é apenas uma ferramenta de manejo, havendo a necessidade de outras estratégias adicionais de controle (Godoy et al., 2016).

3.2.2. Resistência

A resistência genética pode ser classificada como vertical e horizontal, a primeira se refere à resposta de suscetibilidade ou resistência, havendo um arranjo de descontinuidade da distribuição dos sintomas, sendo governada por um ou poucos genes. A segunda é chamada de quantitativa ou poligênica (governada por vários genes), normalmente apresenta uma distribuição contínua, havendo genótipos extremamente suscetíveis até extremamente resistentes (Vale et al., 2001). Trabalhos sugerem que na ferrugem, a interação planta x patógeno segue a teoria gene-a-gene, ou seja, ocorrem genótipos de soja completamente resistentes a raças específicas do fungo (Hartman et al., 2011).

Já foram mapeados sete *loci* de resistência vertical para ferrugem (*Rpp1* a *Rpp7*), contendo pelo menos dez alelos de resistência, nomeados em ordem de descoberta: *Rpp1-a*, *Rpp1-b*, *Rpp2*, *rpp2*, *Rpp3*, *Rpp?*(Hyuuga), *Rpp4*, *Rpp5*, *rpp5*, *Rpp6* e *Rpp7* (Walker et al., 2014; Childs et al., 2017). Além disso, os avanços na biotecnologia têm auxiliado na procura de genes de resistência em outras espécies; p.ex. Kawashima et al. (2016) clonaram o gene de resistência *CcRpp1* a *P. pachyrhizi* em guandu (*Cajanus cajan*) e, posteriormente, transformaram plantas de soja e observaram que as plantas homozigóticas possuíam resposta de imunidade, sem manifestação da doença.

Os sintomas de resistência genética vertical aparecem nas folhas, dependendo da raça específica do fungo (Chakraborty et al., 2009), podendo variar entre: a) reação de imunidade, na qual não há sintomas da doença ou ocorrem leves pontuações de coloração verde-clara, denominadas de *flecks* (reação IF), que podem se tornar necrosadas; b) reação de hipersensibilidade, que resultará em manchas marrom-avermelhadas (*Reddish-Brown*, RB), as quais indicam resistência à ferrugem; c) reação de suscetibilidade, com manchas ou lesões de cor castanho-claras ou beges (TAN), que apresentam muitas urédias e abundante esporulação. Apesar de não ser muito estudada, há relatos de resistência horizontal ou

quantitativa à ferrugem, a qual influencia principalmente no número de lesões, número de urédias, produtividade de urediniósporos, número de urédias por lesão e número de urediniósporos por urédia, retardando o progresso dos sintomas na planta (Koga et al., 2008; Harris et al., 2015).

No Brasil, as empresas Tropical Melhoramento & Genética (TMG) (Cambé, PR) e EMBRAPA (Brasília, DF) já lançaram cultivares resistentes à ferrugem, com os genes *Rpp* (Godoy et al. 2016). Contudo, há relatos de quebra da resistência do gene *Rpp1* e *Rpp6* em campos dos Estados Unidos (Paul et al. 2013) e do Brasil. Apesar da resistência, a empresa detentora da cultivar recomenda a aplicação preventiva ou curativa de fungicida nos estádios R4 e R5 (TMG, 2017), com o intuito de proteger a tecnologia por meio da diminuição da pressão de seleção.

3.2.3. Tolerância

Diferentemente da resistência, a tolerância é definida como a capacidade do genótipo apresentar menor perda de produtividade, quando em contato com o patógeno, em comparação com outras cultivares (Schafer, 1971). Apesar de importante, a tolerância é pouco utilizada nos programas de melhoramento, principalmente devido à presença de sintomas da ferrugem (cultura suja), situação que dificulta a identificação de plantas tolerantes no campo e, também, em razão da multiplicação contínua da doença, aumentando a pressão de doença.

Visando detectar a tolerância de linhagens através da inoculação de esporos de ferrugem e proteção com fungicidas, Hartman; Miles; Frederick (2005) observaram perdas de produtividade variando de 29% a 85%, podendo visualizar a estabilidade produtiva ou tolerância de alguns genótipos e a sensibilidade de outros. Estes resultados sugerem que algumas cultivares, mesmo em contato com a doença, ainda possuem capacidade de produzir satisfatoriamente.

O ciclo da cultura influencia diretamente na severidade da doença, de modo que plantas mais precoces tendem a apresentar menores taxas de ferrugem (Kawuki et al., 2004). Porém, um genótipo tolerante ainda possui estabilidade fenotípica para produtividade, mesmo em condição de estresse pela presença da doença, independentemente do seu ciclo, como o exemplo da cultivar 'BRSGO 7560' (Melo et al., 2015).

O estudo da tolerância é importante não apenas para ganhos em produtividade, mas trabalhos comprovam seu mérito na interação de plantas e patógenos (Kover e Schaal, 2002). Isto é, o gene que confere resistência completa tende a aumentar seu valor adaptativo na população, porém apenas ele não é capaz de eliminar a doença, por isso nunca é fixado, diferentemente da tolerância, o qual não exerce pressão de seleção no patógeno e inclina-se à fixação (Roy et al., 2000). A principal vantagem da utilização da tolerância é sua maior durabilidade, pois ela tende a exercer uma pressão de seleção menor ou nula em relação ao fungo, ao contrário do controle químico e da resistência (Newton, 2016).

Segundo Ney et al. (2013), as habilidades de uma planta tolerante ocorrem em três níveis de estruturas, nos órgãos, na planta e na população (Figura 1). A primeira se refere ao potencial do tecido infectado em aumentar a fotossíntese em áreas saudáveis, reprogramação celular e limitação dos tecidos doentes, evitando que a doença se espalhe. Ao nível de planta, a tolerância é devida ao incremento da assimilação nos tecidos doentes, atrasando a senescência, a emissão de novos órgãos, como hastes, folhas e flores, utilização das reservas energéticas para compensar os danos do patógeno e aumento da relação fonte:dreno. Na estrutura populacional, a tolerância ocorre devido a uma arquitetura favorável de planta, com uso eficiente da radiação solar e pela relação fonte:dreno da planta.

Na ausência de deficiência de água e nutrientes, a Equação 1 pode ser utilizada para estimar a produtividade (Y), a qual é dependente da quantidade da radiação incidente na planta (I), da fração que é interceptada pela copa, pelo uso eficiente da radiação (quociente da matéria seca produzida pela radiação interceptada, RUE) e pelo índice de colheita (fração da produtividade de grãos pela matéria seca total, HI). Em condição de doença, a perda de produtividade ocorre pela alteração da quantidade de radiação que é interceptada pelo dossel e pela eficiência do uso da radiação (Bingham et al., 2009; Johnson, 1987).

$$Y = I \times f \times RUE \times HI$$

Eq. 1

Figura 1. Sintomas de ferrugem ao nível de tecido (A), planta (B) e população (C).

3.3. Estudos em populações segregantes

3.3.1. Análise dialélica univariada

A principal vantagem da utilização dos cruzamentos dialélicos é o desdobramento das variâncias genotípicas, fenotípicas e ambientais. A possibilidade de quantificar qual porção da variância genética é de natureza aditiva e dominante, permite ao melhorista classificar os cruzamentos superiores e mais promissores (Chukwu et al., 2016). As predições genéticas dos cruzamentos dialélicos assumem dois requisitos. O primeiro é que as variâncias e herdabilidades encontradas se aplicam especificamente para a população em estudo. Entretanto, estimativas encontradas para várias populações e em diferentes ambientes podem gerar uma visão geral do caráter estudado. O segundo requisito exige que a população não tenha passado por processo de seleção (Bernardo, 2010).

As três principais metodologias para a análise dialélica são descritas por Hayman (1954), Griffing (1956) e Gardner e Eberhart (1966). A primeira se baseia nas médias, variâncias e covariâncias e fornece informações quanto à herança genética do caráter, permitindo a estimativa de vários parâmetros genéticos, com destaque para o limite máximo de seleção. A segunda metodologia utiliza quatro métodos de análise, considerando os modelos fixo e aleatório, dependendo da natureza amostral dos genitores, fornecendo estimativas de capacidade geral de combinação (CGC) mais associada às variâncias do tipo aditivo e, também, de capacidade específica de combinação (CEC), mais associada às

variâncias que envolvem dominância. O terceiro método se aplica a dialelos de genitores em equilíbrio de Hardy-Weinberg e se caracteriza por prover informações do potencial dos genitores e estimar os diferentes tipos de heterose manifestada nos híbridos (Chukwu et al., 2016 e Cruz et al., 2012a), sendo mais apropriada para espécies alógamas.

Outras abordagens de análises foram descritas na literatura, como os métodos bayesiano (Lenarcic et al., 2012), modelos mistos utilizando melhor preditor linear não viesado (BLUP) (Zhu e Weir, 1996) e análises dialélicas multivariadas (Fulker et al., 1972). Porém, cada um desses métodos possui suas vantagens e desvantagens, e seus usos dependem do objetivo do programa de melhoramento.

Em soja, diversos estudos de análises dialélica já foram empregadas, tanto para o aumento da produtividade (Gavioli et al., 2008; Spehar, 1999), melhoramento de alguma características de interesse (Mebrahtu and Devine, 2008; Suh et al., 2000), ou resistência à doença (Maphosa et al., 2012; Oliveira et al., 2014).

3.3.2. Análise dialélica multivariada

Para a identificação de genótipos superiores, é fato que o melhorista necessita avaliar uma série de caracteres para constatar a superioridade relativa dos mesmos. As análises clássicas de biometria, geralmente, se restringem a uma ou duas características simultaneamente, limitando muitas vezes a interpretação e a identificação das melhores progênes (Ledo et al., 2003). A principal desvantagem da análise de caracteres isoladamente é que esta seleção não leva em consideração as correlações existente entre eles, possibilitando que a seleção baseada em apenas um caráter pode ocasionar alterações em outras, podendo ou não prejudicar o programa de melhoramento (Benin et al., 2009).

Tradicionalmente, o estudo de populações segregantes é univariado e se dá pelo método de Griffing (1956), o qual possibilita a estimativa dos efeitos aditivos (capacidade geral de combinação) e não aditivos (capacidade específica de combinação). Uma alternativa é a utilização da análise dialélica multivariada, permitindo o estudo de todas informações coletadas na parcela e a correlação entre elas (Ledo et al., 2003).

A análise dialélica multivariada já foi estudada em diversas culturas, como por exemplo: soja (AMARAL et al., 2004), milho (Gonçalves et al., 2014), trigo (Benin et al., 2009), pimentão (Nascimento et al., 2010), pinhão-mansão (Teodoro et al., 2017). Esta análise baseia-

se no teste de variância multivariada e na utilização de outras abordagens, como a correlação canônica, componentes principais e índices de seleção, com o objetivo de reduzir as dimensões dos dados e estudar as correlações entre as variáveis (Ledo et al., 2003).

Outra vantagem da utilização desta análise é a identificação de genótipos tolerantes à ferrugem, uma vez que a tolerância é a soma de características que tornam a planta capaz de produzir satisfatoriamente, mesmo em contato com o patógeno (Ney et al., 2013). Uma abordagem semelhante foi utilizada por Amaral et al., (2004) ao estudar a herança da resistência quantitativa da soja à *Cercospora sojina*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Híbridações

Inicialmente, foram realizados 40 cruzamentos dialélicos parciais, sem recíprocos, entre dois grupos de genitores em esquema 4x10 (Tabela 1). O primeiro grupo envolveu quatro cultivares comerciais de soja transgênica (RR1), cujas características estão apresentadas na Tabela 2. Já o segundo grupo de genitores compreendeu dez linhagens tolerantes à ferrugem da soja e transgênicas (RR1), obtidas pelo Laboratório de Genética Aplicada às Espécies Autógamas (LGAEA), Departamento de Genética, ESALQ/USP, em Piracicaba-SP e cujas genealogias também estão apresentadas na Tabela 2. Estas linhagens genitoras são oriundas de um programa de seleção recorrente, em que o primeiro ciclo foi obtido a partir de um dialelo parcial 4x5, envolvendo um primeiro grupo de dois genitores transgênicos (as cultivares BRS 245 RR e Valiosa RR) e suas respectivas versões convencionais e um segundo grupo de genitores formado por cinco genitores convencionais representados por linhagens experimentais previamente selecionadas no programa de produtividade de óleo, conforme detalhado por Amorim (2011) e Nazato (2014).

No ano agrícola 2014/2015, foram semeados os genitores em cultivo protegido, de forma escalonada, com o objetivo de sincronizar os cruzamentos. Foram utilizados vasos de argila com volume de aproximadamente cinco litros, contendo uma mistura de solo, húmus e adubo químico. Foram realizadas pelo menos 30 híbridizações por cruzamento, com o objetivo de se obter uma quantidade mínima de 12 vagens com sementes híbridas. As vagens oriundas de cada cruzamento foram colhidas individualmente, identificadas e armazenadas para semeadura no ano posterior.

A escolha da realização do dialelo em forma parcial foi devido às origens dos genitores, havendo dois grupos distintos, um primeiro grupo de linhagens experimentais com tolerância à ferrugem e o segundo grupo formado por cultivares comerciais elites atualmente disponíveis para cultivo. Assim, o propósito foi gerar populações, com possíveis segregantes transgressivos, adaptadas ao cultivo, com base genética ampla, tolerância à ferrugem e alta produtividade de grãos.

Tabela 1. Esquema do dialelo parcial, sem recíprocos, do tipo 4 x 10 genitores, com identificação dos 40 cruzamentos com as siglas C11, C21,..., C104 e seus respectivos genitores.

Genitores		USP 14- 22.001	USP 14- 22.002	USP 14- 22.003	USP 14- 22.004	USP 14- 22.005	USP 14- 22.006	USP 14- 22.007	USP 14- 22.008	USP 14- 22.009	USP 14- 22.010
		L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9	L10
M-SOY 7908 RR	C1	C11	C21	C31	C41	C51	C61	C71	C81	C91	C101
AS 7307 RR	C2	C12	C22	C32	C42	C52	C62	C72	C82	C92	C102
V Max RR	C3	C13	C23	C33	C43	C53	C63	C73	C83	C93	C103
BMX Potência RR	C4	C14	C24	C34	C44	C54	C64	C74	C84	C94	C104

Tabela 2. Principais características das dez linhagens genitoras obtidas pelo programa de seleção recorrente do Laboratório de Genética Aplicada às Espécies Autógamas (LGAEA), Departamento de Genética, ESALQ/USP, em Piracicaba-SP e das quatro cultivares utilizadas como genitoras no dialelo 4 x 10.

Genitor	Características				
	G.M.	H.C.	Altura (m)	Acamamento	Observações
USP 14-22.001	N.D.	Indeterminado	1,04	M.R.	Ciclo médio de 140 dias
USP 14-22.002	N.D.	Indeterminado	1,2	M.S.	Ciclo médio de 142 dias
USP 14-22.003	N.D.	Indeterminado	0,93	M.S.	Ciclo médio de 142 dias
USP 14-22.004	N.D.	Indeterminado	1,12	M.R.	Ciclo médio de 140 dias
USP 14-22.005	N.D.	Indeterminado	0,99	M.R.	Ciclo médio de 134 dias
USP 14-22.006	N.D.	Indeterminado	1,23	M.R.	Ciclo médio de 124 dias
USP 14-22.007	N.D.	Indeterminado	0,83	R.	Ciclo médio de 129 dias
USP 14-22.008	N.D.	Indeterminado	0,76	R.	Ciclo médio de 133 dias
USP 14-22.009	N.D.	Indeterminado	0,92	R.	Ciclo médio de 138 dias
USP 14-22.010	N.D.	Indeterminado	0,85	M.R.	Ciclo médio de 128 dias
AS 7307 RR	7.3	Indeterminado	0,90	R.	Resistente ao nematoide de galhas
BMX Potência RR	6.7	Indeterminado	0,95	R.	Resistente ao cancro da haste
M-SOY 7908 RR	7.9	Determinado	0,75	M.R.	Resistência a oídio, cancro da haste, mancha olho-de-rã e nematoide de galha
V Max RR	6.2	Indeterminado	1,10	R.	Resistente a nematoide de cisto, cancro da haste e mancha olho-de-rã

G.M. grupo de maturação; H.C. Hábito de Crescimento; A.P.; N.D. não disponível; M.S. Moderadamente suscetível; M.R. Moderadamente resistente; R. Resistente.

4.2. Geração F₁

No ano agrícola 2015/16 foi realizada a condução da geração F₁. As sementes provenientes dos cruzamentos foram semeadas em tubetes contendo substrato comercial. As plântulas foram conduzidas inicialmente em ambiente protegido e com irrigação. Após 12 dias da emergência, no estágio V₁, foram transplantadas a campo, em covas espaçadas 0,80 m x 0,80 m. A irrigação e os tratos culturais foram realizados conforme a necessidade da cultura.

Foram utilizados descritores morfológicos para confirmar os cruzamentos, tais como: cor das flores, cor da pubescência e cor das vagens. As plantas em que o fenótipo esperado não foi observado foram descartadas. Cada cruzamento possuía um número mínimo de 12

plantas F_1 . A colheita foi realizada de forma individual, conforme a maturação de cada material. Posteriormente, foram identificadas e armazenadas individualmente as sementes F_2 de cada planta.

4.3. Geração F_2

A geração F_2 foi conduzida no ano agrícola de 2016/17. Para isso, as sementes de cada planta F_1 originaram uma parcela em F_2 . A semeadura foi manual, utilizando um sistema de plantio convencional e adubação mecanizada na linha de plantio. Os tratos culturais, como a irrigação, aplicação de herbicidas e inseticidas foram realizados de acordo com a necessidade da cultura.

Os experimentos foram conduzidos na área experimental do Departamento de Genética da ESALQ/USP, no município de Piracicaba-SP, com latitude $22^\circ 41'S$, longitude $47^\circ 39' O$ e altitude média de 546 m. Os dados meteorológicos referentes às datas de condução dos experimentos foram obtidos a partir da estação meteorológica de observação de superfície automática do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), localizado no município de Piracicaba-SP (Figura 2).

O solo é classificado como Nitossolo Vermelho Eutrófico, popularmente chamado de terra roxa estruturada. As análises químicas do perfil 0-20 centímetros revelaram teor de $2,3 \text{ g dm}^{-3}$ de matéria orgânica; Fósforo em resina de 39 mg.dm^{-3} ; 9 mg.dm^{-3} de enxofre; 3, 26 e 11 mmolc.dm^{-3} de K, Ca e Mg, respectivamente e saturação por bases de 67%.

Figura 2. Gráfico referente às condições ambientais de precipitação (mm), temperatura média (°C) e umidade relativa do ar (%) e de doença (severidade de ferrugem %), Piracicaba-SP.

Foram conduzidos quatro experimentos vizinhos na mesma área experimental, dois deles contendo os 40 cruzamentos (geração F_2) e os outros dois experimentos formado com os 14 genitores. Os experimentos dos cruzamentos seguiram o delineamento de blocos ao acaso com quatro repetições, cada uma delas organizada em dois conjuntos com três testemunhas comuns, os genitores BMX Potência RR, MSOY 7908 RR e V Max RR; cada conjunto foi formado por 23 parcelas experimentais, constituídas por 20 cruzamentos e as três testemunhas. Os experimentos dos genitores foram realizados no delineamento de blocos ao acaso com três repetições; cada repetição foi formada pelos 14 genitores dos cruzamentos. Em todos os experimentos, a parcela experimental foi composta por uma fileira de 2 m x 0,5 m, totalizando 1 m² de área útil.

Para a avaliação da tolerância à ferrugem da soja, os experimentos dos genitores e dos cruzamentos foram replicados em dois ambientes, diferindo apenas nos manejos da ferrugem com fungicidas. O primeiro ambiente compreendeu o manejo para controle da ferrugem e das demais doenças de fim de ciclo (Manejo 1), no qual foram realizadas três aplicações preventivas de fungicidas com os princípios ativos fluxapiroxade e piraclostrobina, nas doses de 58,45 e 116,55 g i.a. ha⁻¹. O segundo ambiente envolveu o manejo para controle das doenças de fim de ciclo exceto a ferrugem (Manejo 2), com três aplicações preventivas de fungicida com o princípio ativo carbendazim na dose de 300 g i.a. ha⁻¹ com o volume de calda

de 350 Litros de água ha⁻¹ para ambos os manejos. Portanto, no total foram conduzidos quatro experimentos, combinando dois tipos de genótipos (cruzamentos e genitores) e dois manejos da ferrugem com fungicidas (com e sem controle da ferrugem).

4.3.1. Caracteres avaliados

Em todos os experimentos, foram avaliados os seguintes caracteres:

- a. Número de dias para R₅ (NDR5): período (em dias) transcorrido entre a semeadura e o início da granação (enchimento de grãos), o qual se caracteriza pela presença de uma vagem com pelo menos um grão de 3 mm de comprimento, em um dos quatro nós superiores da haste principal da planta, seguindo a escala de Fehr e Caviness (1977).
- b. Número de dias para maturidade (NDM): período (em dias) transcorrido entre a semeadura e a maturação plena em R₈, no qual 50% das plantas da parcela apresentaram 95% ou mais das vagens maduras, seguindo a escala de Fehr e Caviness (1977).
- c. Arquitetura da planta (AP): Avaliado através de escala de notas visuais variando de 1 (plantas com arquitetura menos favorável) até 5 (fenótipo ideal com o maior número de ramos e com menor ângulo de inserção dos ramos) aos 102 dias após a semeadura, metodologia adaptada de Moura et al. (2013).
- d. Escores da área foliar (EAF): Os escores de área foliar foram avaliados aos 102 dias após a semeadura, através de uma escala comparativa de notas visuais variando de 1 a 5, considerando plantas com menor a maior quantidade de área foliar, respectivamente.
- e. Período de granação (enchimento de grãos, PEG): período (em dias) transcorrido entre os estádios R₅ e R₇; na escala de Fehr e Caviness (1977), R₅ se refere ao dia em que 50% das plantas da parcela apresentaram grãos com 3mm de comprimento (início da granação), num dos quatro últimos nós da haste principal, com folha completamente desenvolvida, enquanto que R₇ ocorreu quando 50% da

parcela apresentou uma vagem normal no caule com coloração madura (maturação fisiológica).

f. Altura de planta na maturidade (APM): compreendeu a distância, em centímetros, entre a superfície do solo e a extremidade da haste principal da planta, durante o estágio R₈ (maturação plena), seguindo a escala de Fehr e Caviness (1977); o valor da parcela foi dado pela média aritmética de cinco plantas competitivas tomadas ao acaso.

g. Acamamento (AC): avaliado de acordo com escala de notas visuais, variando de 1 (todas as plantas eretas na parcela) até 5 (todas as plantas acamadas na parcela), foi avaliado no estágio R₈ da escala de Fehr e Caviness (1977).

h. Valor agronômico (VA): avaliação por meio de uma escala de notas visuais, variando de 1 (plantas agronomicamente ruins na parcela) a 5 (plantas agronomicamente ideais na parcela); este índice reuniu uma série de caracteres, tais como arquitetura da planta, altura da planta, vigor, sanidade e número de vagens (potencial produtivo); foram utilizadas as testemunhas (cultivares comerciais), dentro de cada conjunto, como referências de comparação.

i. Estande: estimado visualmente por meio de um valor representativo da % de falhas da parcela, para posterior correção dos dados de produtividade, pelo método de análise de covariância descrita por Cruz et al. (2012).

j. Produtividade de grãos (PG): avaliado após a secagem dos grãos até a umidade de 13% em ambiente de laboratório, à sombra e com circulação de ar por meio de ventiladores de teto durante um período de duas semanas; posteriormente, o peso da parcela foi transformado para kg ha⁻¹.

k. Severidade da doença: para a avaliação da severidade, foi utilizada a escala diagramática de ferrugem de Godoy; Koga; Canteri (2006), sendo avaliada em diferentes períodos durante o estágio reprodutivo da cultura, conforme mostrado na Figura 2.

l. Índice de colheita (IC): antes da trilhagem, o material biológico da parcela (massa dos caules, legumes e grãos, com exceção do sistema radicular) foi recolhido e seco à sombra com circulação de ar. Posteriormente, foi pesado e trilhado e os grãos pesados separadamente. Em seguida, foi estimado o índice de colheita aparente (IC) pela seguinte expressão:

$$IC = \frac{\text{Produtividade de grãos (PG)}}{\text{Produtividade do material biológico}} \times 100 \quad \text{Eq. 2}$$

m. Peso de cem sementes (PCS): após a secagem das sementes em laboratório até próximo de 13% de umidade, foram amostradas ao acaso 100 sementes por parcela e, posteriormente, pesadas em balança de precisão, em gramas.

4.3.2. Análises estatísticas

Para testar os pressupostos da análise de variância (Anova), foram empregados os testes de normalidade dos resíduos (Shapiro e Wilk, 1965) e homogeneidade das variâncias (Bartlett, 1937). As variáveis que não atenderam o pressuposto foram transformadas por $(x)^{0.5}$. As análises estatísticas utilizadas foram realizadas com o auxílio dos softwares Genes (Cruz, 2013) e R Core Team (2016).

Para uma maior precisão experimental, foi realizado teste para o ajuste das médias com base nas testemunhas, nos experimentos dos cruzamentos com delineamento de blocos ao acaso estratificados em conjuntos com testemunhas comuns; para tanto, foi utilizado o modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + t_i + c_j + tc_{ij} + b_k + e_{ijk} \quad \text{Eq. 3}$$

Em que:

Y_{ij} : valor observado referente ao genótipo i , no conjunto j e no bloco k ;

μ : constante comum a todos os tratamentos (genótipos);

t_i : efeito fixo da testemunha i , sendo $i = 1, \dots, i$;

c_j : efeito aleatório do conjunto j , sendo $j = 1, \dots, j$, com $c_j \sim N(0, I \otimes \sigma_c^2)$;

tc_{ij} : efeito aleatório da interação entre testemunha i e conjunto j , com $tc_{ij} \sim N(0, I \otimes \sigma_{tc}^2)$;

b_k : efeito aleatório do bloco k , sendo $k = 1, \dots, k$, com $b_k \sim N(0, I \otimes \sigma_b^2)$;;

e_{ij} : efeito aleatório do resíduo experimental da parcela que recebeu a testemunha i dentro do conjunto j , no bloco k , admitindo-se que $e_{ijk} \sim N(0, I \otimes \sigma^2)$.

Quando ocorreu efeito significativo entre “conjuntos” e ou da interação “testemunhas x conjuntos” foi empregado o ajustamento das médias para minimizar o efeito ambiental entre conjuntos, dentro de repetições. Para isso foi utilizado o índice de correção para cada conjunto, de acordo com a metodologia de Pimentel-Gomes (2009). Posteriormente ao ajustamento das médias, foi utilizado o modelo de blocos ao acaso para as análises estatístico-genéticas.

Após a constatação dos pressupostos anteriormente relatados, foram realizadas análises de variâncias individuais para cada experimento. Para os experimentos dos genitores, o modelo estatístico utilizado foi o seguinte:

$$Y_{ij} = \mu + g_i + b_j + e_{ij} \quad \text{Eq. 4}$$

Em que:

Y_{ij} : observação referente ao genótipo i e no bloco j ;

μ : constante comum a todos os tratamentos (genitores);

g_i : efeito fixo do genitor i , sendo $i = 1, \dots, i$;

b_j : efeito aleatório do bloco j , sendo $j = 1, \dots, j$;

e_{ij} : efeito aleatório do resíduo experimental da parcela que recebeu o genótipo i dentro do bloco j , admitindo-se que $e_{ij} \sim N(0, I \otimes \sigma^2)$.

Para os experimentos dos cruzamentos, o modelo estatístico utilizado foi o seguinte:

$$Y_{ij} = \mu + g_i + b_j + e_{ij} \quad \text{Eq. 5}$$

Em que:

Y_{ij} : observação referente ao genótipo i e no bloco j ;

μ : constante comum a todos os tratamentos;

g_i : efeito fixo do genótipo i , sendo $i = 1, \dots, i$;

b_j : efeito aleatório do bloco j , sendo $j = 1, \dots, j$;

e_{ij} : efeito aleatório do resíduo experimental da parcela que recebeu o genótipo i dentro do bloco j , admitindo-se que $e_{(ij)} \sim N(0, I \otimes \sigma^2)$.

As análises estatísticas utilizadas foram realizadas com o auxílio do software Genes (Cruz, 2013) e R Core Team (2016).

4.3.3. Análise exploratória dos genitores

Com o intuito de estudar a base genética das dez linhagens experimentais genitoras do dialelo 4x10, realizou-se uma pesquisa na genealogia para identificar os ancestrais que constituem a genealogia destas linhagens. Posteriormente, realizou-se a caracterização dos genitores a partir de análises multivariadas de componentes principais e agrupamento.

A contribuição genética relativa de cada ancestral (CGR) para todas as cultivares foi calculada como a média aritmética de todos os coeficientes de parentesco entre um ancestral e todas as cultivares. Para o cálculo da CGR foram consideradas as seguintes pressuposições:

- Todos os ancestrais são independentes, ou seja, têm coeficiente de parentesco igual a zero;
- Em cada cruzamento, 50% dos genes vêm de cada genitor;
- Os ancestrais e cultivares são homozigotos e homogêneos;
- Não foi considerada a possível ocorrência de mutações; e
- Coeficiente de parentesco entre plantas selecionadas e seus genitores de origem é igual a um.

Os coeficientes de parentescos de Malécot foram estimados segundo a metodologia de Falconer e Mackay (1996), a partir da equação:

$$f_{x,y} = \frac{1}{4} (f_{AC} + f_{AD} + f_{BC} + f_{BD}) \quad \text{Eq. 6}$$

Em que:

f = coeficiente de parentesco entre os indivíduos X e Y

A e B = Genitores de X

C e D = Genitores de Y

O dendrograma de similaridade foi derivado a partir da análise de agrupamentos hierárquicos utilizando as distâncias genéticas obtidas a partir da genealogia das dez linhagens USP e a conexão entre os grupos foi realizada pelo método de Ward.

A partir dos dados fenotípicos das 11 variáveis avaliadas, foi calculada a média dos 14 genitores nos dois manejos de fungicidas e a média dos dois ambientes (manejo de fungicidas) e realizada a padronização destes valores médios, transformando-os para média zero e variância um, utilizando a seguinte equação:

$$Z_i = \frac{X_i - \bar{X}}{S} \quad \text{Eq. 7}$$

Em que:

Z_i = valor padronizado na i observação da determinada variável;

X_i = valor observado na i observação da determinada variável;

$\bar{X}$ = média da determinada variável;

S = desvio-padrão da determinada variável.

Com os dados padronizados, foram realizadas análises multivariadas de componentes principais (PCA) e agrupamento hierárquicos. A primeira tem como objetivo resumir os dados, reduzindo o número de variáveis em poucos componentes, utilizando informações de correlação entre as medidas. A segunda é de agrupar os genótipos similares (Cruz et al., 2014).

Os dados foram processados pela PCA com a matriz de covariância, considerando os autovalores correspondentes aos próprios autovetores, os quais são as combinações lineares das variáveis originais, originando os componentes principais (Manly, 2008). A análise de agrupamentos hierárquicos foi realizada a partir das distâncias euclidianas dos 11 caracteres fenotípicos e a conexão entre os grupos foi realizada pelo método de Ward, para o manejo 1, 2 e o ambiente médio.

4.3.4. Análise da capacidade combinatória

As análises de variância dialélica para estimar as capacidades gerais (CGC) e específicas (CEC) de combinação e sua interação com os manejos de fungicidas foi realizada

utilizando a metodologia proposta por Griffing (1956), modelo IV, adaptada para dialelo parcial de Dhillon (1978) e Vencovsky e Barriga (1992). Para a constatação da homogeneidade de variância do erro da análise conjunta dos experimentos, foi realizada a metodologia descrita por Pimentel-Gomes (2009), em que a razão entre o maior e o menor quadrado médio do resíduo das análises de variâncias dos experimentos dos cruzamentos não poderia ser superior a sete. O modelo genético-estatístico utilizado está descrito na eq. 8.

$$Y_{ijkl} = \mu + b_{ij} + g_{I_k} + g_{II_l} + S_{kl} + f_i + g_{I_k}f_i + g_{II_l}f_i + S_{kl}F_i + e_{ijkl} \quad \text{Eq. 8}$$

Em que:

Y_{ijkl} : observação referente ao híbrido kl no bloco i e no experimento j;

μ : constante comum a todos os tratamentos (genótipos);

b_{ij} : efeito do bloco i dentro do manejo de fungicida j;

g_{I_k} : efeito da capacidade geral de combinação (CGC) no grupo dos genitores I ($k = 10$);

g_{II_l} : efeito da capacidade geral de combinação (CGC) no grupo dos genitores II ($l = 4$);

S_{kl} : efeito da capacidade específica de combinação (CEC) kl das combinações híbridas (geração F_2), considerando que $s_{ij} = s_{ji}$.

F_i : efeito dos manejos de fungicidas ($j = 2$);

$g_{I_k} F_i$: efeito da interação entre a CGC I k e o manejo de fungicida j;

$g_{II_l} F_i$: efeito da interação entre a CGC II l e o manejo de fungicida j;

$S_{kl} F_i$: efeito da interação entre a CEC kl e o manejo de fungicida j;

e_{ijkl} : efeito aleatório do resíduo experimental da parcela que recebeu o cruzamento kl dentro do bloco i e manejo de fungicida j, admitindo-se que $e_{(ij)} \sim N(0, I \otimes \sigma^2)$.

Na análise de capacidade combinação, a CGC é dependente dos efeitos aditivos dos genitores e valores altos ou baixos indicam quais contribuem positivamente ou negativamente para determinada característica; já a CEC é relacionada aos efeitos não aditivos (Cruz et al., 2012). Efeitos elevados para CGC e CEC indicam complementariedade entre genitores, possibilitando a obtenção de segregantes transgressivos, durante o avanço na endogamia (Oliveira et al., 2014). Considerando isso, durante o processo de interpretação

do dialelo, é importante que pelo menos um dos genitores do cruzamento possua alta capacidade geral de combinação e alta capacidade específica de combinação (Cruz et al., 2012).

As capacidades gerais e específicas de combinação foram apresentadas utilizando a abordagem de gráficos do tipo *heat map*, permitindo uma visão geral da população em estudo, facilitando a identificação de genitores com alta capacidade geral de combinação e de cruzamentos com alta capacidade específica. Esta abordagem foi adaptada de Gehlenborg et al. (2010).

Os efeitos dos componentes quadráticos para a capacidade geral (ΦCGC) e específica (ΦCEC) de combinação foram estimados a partir dos métodos dos momentos baseado em Torres e Geraldi (2007), de acordo com as seguintes equações:

$$\Phi CGC_{gl} = \frac{QM_{gl} - QM_{residual}}{LJ} \quad \text{Eq. 9}$$

$$\Phi CGC_{gII} = \frac{QM_{gII} - QM_{residual}}{KJ} \quad \text{Eq. 10}$$

$$\Phi CEC_{skl} = \frac{QM_S - QM_{residual}}{JI} \quad \text{Eq. 11}$$

Em que o QM_{gl} , QM_{gII} , QM_S e QM_{res} são referentes ao quadrado médio da capacidade geral de combinação do grupo I, II, capacidade específica de combinação e do quadrado médio residual, respectivamente.

Posteriormente, as estimativas da relação da CGC e CEC foram estimadas de acordo com Baker (1978), para se conhecer a importância relativa dos efeitos aditivos sobre os efeitos genéticos totais, pela seguinte expressão:

$$\text{Relação de Baker} = \frac{\Phi CGC_{gl} + \Phi CGC_{gII}}{\Phi CGC_{gl} + \Phi CGC_{gII} + \Phi CEC_{skl}} \quad \text{Eq. 12}$$

4.3.5. Análises de correlações e trilha entre caracteres para cada ambiente

Os caracteres foram combinados em pares para a estimação da correlação de Pearson entre eles, em cada um dos manejos de fungicidas, utilizando a seguinte expressão:

$$r = \frac{\text{Cov}(X, Y)}{\sqrt{\text{Var}(X) \cdot \text{Var}(Y)}} \quad \text{Eq. 13}$$

Na qual:

r: correlação de Pearson;

Cov (X, Y): covariância entre os valores dos caracteres X e Y;

Var (X): variância de X; e

Var (Y): variância de Y.

Com a matriz de correlação, foram descartadas as variáveis com multicolinearidade moderada a severa, utilizando *variance inflation factors* (VIF), nos quais as variáveis com VIF superior a 10 foram excluídas (Cruz et al. 2012). Posteriormente, foi realizada a análise de trilha para explicar a produtividade de grãos (PG) nos manejos 1 e 2, utilizando as seguintes variáveis explicativas: peso de cem sementes (PCS); Índice de colheita (IC); período de granação ou enchimento de grãos (PEG); escores da área foliar (EAF); arquitetura da planta (AP); altura da planta na maturidade (APM); acamamento (AC), valor agrônômico (VA) e número de dias para a maturidade (NDM).

4.3.6. Índices de seleção para tolerância à ferrugem

Os índices de seleção para a identificação dos genótipos tolerantes à ferrugem da soja foram calculados a partir da média da produtividade de cada manejo de fungicidas utilizando os seguintes procedimentos e fórmulas descritas por Sio-Se Mardeh et al. (2006):

- a. Manejo 1 (M1): Média do híbrido F₂ no manejo de fungicidas para o controle das doenças de fim de ciclo, incluindo-se a ferrugem;
- b. Manejo 2 (M2): Média do híbrido F₂ no manejo de fungicidas para controle das doenças de fim de ciclo, exceto a ferrugem;
- c. Índice de Suscetibilidade ao Estresse (ISE):

$$\frac{1 - \left(\frac{M2}{M1} \right)}{1 - \left(\frac{M2_{\text{médio}}}{M1_{\text{médio}}} \right)} \quad \text{Eq. 14}$$

- d. Índice de Tolerância ao Estresse (ITE):

$$\frac{1 - \left(\frac{M2}{M1}\right)}{M_{\text{médio}}} \quad \text{Eq. 15}$$

e. Média geométrica da produtividade (MGP):

$$[(M1 * M2)^{0.5}] \quad \text{Eq. 16}$$

f. Média Harmônica (MH):

$$\frac{2 (M1 * M2)}{(M1 + M2)} \quad \text{Eq. 17}$$

g. Modelo Linear (ML): Valor referente ao coeficiente angular da regressão linear da produtividade de grãos nos ambientes M1 e M2.

Considerando que M1médio e M2médio como sendo a média de produtividade nos manejos 1 e 2, respectivamente e M_{médio} como a média do cruzamento F₂ nos dois manejos, com e sem controle da ferrugem;

Posteriormente, foi realizado o teste de agrupamento de médias de Scott e Knott (1974), a 10% de probabilidade, para a produtividade de grãos nos manejos 1 e 2. Para a melhor interpretação dos dados foi realizada a análise de componentes principais e a construção do gráfico com os valores dos manejos 1 e 2 distribuídos nos eixos cartesianos X e Y, respectivamente.

4.3.7. Análise dialélica multivariada

Para a análise dialélica multivariada, os caracteres foram divididos em dois grupos, os adaptativos e os reprodutivos. O primeiro grupo consistiu nos caracteres: número de dias para R₅ (NDR5); número de dias para a maturidade (NDM); arquitetura da planta (AP); escores da área foliar (EAF); altura da planta na maturidade (APM); acamamento (AC) e valor agrônomo (VA). O segundo grupo foi composto pelos caracteres: produtividade de grãos (PG); índice de colheita (IC); peso de cem sementes (PCS) e período de granação ou enchimento de grãos (PEG). Posteriormente, as variáveis foram analisadas para a identificação de multicolineariedade por meio de *variance inflation factors* (VIF), nos quais os caracteres com VIF superior a 10 foram excluídos.

A análise dialélica multivariada foi realizada a partir da metodologia descrita por Ledo, Ferreira e Ramalho (2003). O teste de significância dos efeitos genéticos foi realizado a partir da análise multivariada da variância (MANOVA), utilizando o teste de aproximação do F de Wilks (Harris, 2001). Os testes de significância individuais foram realizados para cada manejo de fungicidas. Posteriormente, foi realizada a análise de componentes principais (PCA) com os valores médios de cada ambiente, determinando um valor mínimo de 70% de representação. Para a identificação dos caracteres mais associados a cada componente principal foi realizada a análise de correlação de Pearson. As capacidades gerais (CGC) e específicas (CEC) de combinação, realizadas com os valores de PCA, foram estimadas em ambos os ambientes (fungicidas) para os caracteres adaptativos e reprodutivos.

Para facilitar a interpretação dos dados, a escolha dos melhores genitores e melhores cruzamentos foi realizada por meio da análise de ideótipos, na qual foi determinada quais características se desejava aumentar ou diminuir com base na correlação entre os componentes principais e os escores de cada genótipo. Esta abordagem foi descrita inicialmente por Donald (1968) e adaptada para dialelo multivariado por Jung et al. (2007).

As capacidades gerais e específicas de combinação foram apresentadas utilizando a abordagem de gráficos do tipo *heat map*, permitindo uma visão geral da população em estudo, facilitando a identificação de genitores com alta capacidade geral de combinação e de cruzamentos com alta capacidade específica. Foram utilizadas setas para indicar o ideótipos desejado para cada um dos componentes principais.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análise exploratória dos genitores

A genealogia das dez linhagens genitoras obtidas pelo programa de seleção recorrente do Laboratório de Genética Aplicada às Espécies Autógamas (LGAEA) revelou que 25 ancestrais contribuíram com alelos para o desenvolvimento das dez linhagens experimentais tolerantes à ferrugem (Tabela 1). Destes, os ancestrais Lo75-4484, Numbaíra, FT-Abyara e BR83-147 foram os que apresentaram os maiores valores de contribuição genética relativa (CGR).

Destes 25 ancestrais, alguns participaram diretamente com a expansão da soja no Brasil, que é o caso das cultivares IAC 2, IAC Foscarin 31, FT 2, Primavera, Bragg, Davis, Viçoja e Mineira, sendo cultivadas principalmente nas décadas de 60, 70 e 80 (EMBRAPA, 1984). A partir de informações obtidas pelo USDA (GRIN, 2017), foram levantadas as presenças de genes principais de resistência a doenças importantes da soja, assim distribuídos nos ancestrais: nematoide de galhas em IAC 2 e D75-10169; nematoides de cistos em PI 437654, Centennial e D48-216; *Phytophthora* em D75-10169 e Davis; pústula bacteriana em PI 371611, Bragg, Cobb, D75-10169 e Hill; cancro da haste em PI 371611, Hill e PI 240664.

Wysmierski e Vello (2013), em um estudo sobre a base genética da soja, revelaram que apenas 14 ancestrais representavam 92,4% da base genética das 444 cultivares comerciais de soja estudadas, justificando trabalhos com o objetivo de aumentar a base genética. Estes autores também detectaram que os quatro ancestrais com maiores CGR foram CNS, S-100, Roanoke e Tokyo, ou seja, os mesmos destaques ocorridos há cerca de 25 anos antes (Hiromoto e Vello, 1986); neste período houve aumentos significativos no número de cultivares analisados (69 contra 444) e no número total de ancestrais encontrados nas genealogias (26 contra 60). Por outro lado, foram observados diferentes ancestrais predominando nas genealogias dos 10 genitores analisados nesta pesquisa. Essas informações revelaram que dentro da população avaliada de genitores, a variabilidade genética disponível deve ser maior do que a esperada com base nos dois últimos artigos citados, além de haver genes de resistência às principais doenças da soja, fatores estes que devem ter contribuído para o bom desempenho e variabilidade genética dos 40 cruzamentos.

Tabela 3. Genealogias das linhagens experimentais genitoras obtidas pelo programa de seleção recorrente do Laboratório de Genética Aplicada às Espécies Autógamas (LGAEA), Departamento de Genética, ESALQ/USP, Piracicaba-SP.

Genótipos	USP 14- 22.001	USP 14- 22.002	USP 14- 22.003	USP 14- 22.004	USP 14- 22.005	USP 14- 22.006	USP 14- 22.007	USP 14- 22.008	USP 14- 22.009	USP 14- 22.010	CGR	F
Lo75-4484	0,250	0,250	0,250	0,250	0,250	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,125	0,000
Numbaíra	0,250	0,250	0,250	0,250	0,250	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,125	0,000
FT-Abyara	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,250	0,250	0,250	0,250	0,250	0,125	0,000
BR83-147	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,250	0,250	0,250	0,250	0,250	0,125	0,000
PI 371.611	0,250	0,000	0,000	0,000	0,000	0,250	0,000	0,000	0,000	0,000	0,050	0,000
Tracy M	0,000	0,125	0,000	0,000	0,000	0,000	0,125	0,000	0,000	0,000	0,025	0,000
Centennial	0,000	0,063	0,063	0,063	0,063	0,000	0,063	0,063	0,063	0,063	0,050	0,000
D75-10169	0,000	0,063	0,000	0,000	0,000	0,000	0,063	0,000	0,000	0,000	0,013	0,000
Viçoja	0,000	0,063	0,000	0,000	0,000	0,000	0,063	0,000	0,000	0,000	0,013	0,000
Hill	0,000	0,031	0,000	0,000	0,000	0,000	0,031	0,000	0,000	0,000	0,006	0,000
PI 240664	0,000	0,031	0,000	0,000	0,000	0,000	0,031	0,000	0,000	0,000	0,006	0,000
IAC-2	0,000	0,063	0,000	0,000	0,000	0,000	0,063	0,000	0,000	0,000	0,013	0,000
PI 437654	0,250	0,000	0,000	0,000	0,250	0,250	0,000	0,000	0,000	0,250	0,100	0,000
Mineira	0,000	0,063	0,000	0,000	0,000	0,000	0,063	0,000	0,000	0,000	0,013	0,000
IAC- Foscarin- 31	0,000	0,000	0,125	0,000	0,000	0,000	0,000	0,125	0,000	0,000	0,025	0,000
Dyer	0,000	0,000	0,063	0,000	0,000	0,000	0,000	0,063	0,000	0,000	0,013	0,000
Bragg	0,000	0,000	0,063	0,000	0,000	0,000	0,000	0,063	0,000	0,000	0,013	0,000
Cobb	0,000	0,000	0,031	0,031	0,031	0,000	0,000	0,031	0,031	0,031	0,019	0,000
D68-216	0,000	0,000	0,031	0,031	0,031	0,000	0,000	0,031	0,031	0,031	0,019	0,000
FT 8184	0,000	0,000	0,063	0,000	0,000	0,000	0,000	0,063	0,000	0,000	0,013	0,000
Davis	0,000	0,000	0,063	0,000	0,000	0,000	0,000	0,063	0,000	0,000	0,013	0,000
Primavera	0,000	0,000	0,000	0,125	0,000	0,000	0,000	0,000	0,125	0,000	0,025	0,000
Kirby	0,000	0,000	0,000	0,125	0,000	0,000	0,000	0,000	0,125	0,000	0,025	0,000
FT-2	0,000	0,000	0,000	0,125	0,000	0,000	0,000	0,000	0,125	0,000	0,025	0,000
Soc. 81-76	0,000	0,000	0,000	0,000	0,125	0,000	0,000	0,000	0,000	0,125	0,025	0,000
Soma	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	

A partir da matriz das genealogias, foram realizados os cálculos dos coeficientes de parentesco (tabela 4) e a análise de dendrograma (Figura 3) entre as dez linhagens experimentais usadas como genitoras dos 40 cruzamentos. Ambas as análises revelaram a formação de quatro grupos mais semelhantes, agrupando os genótipos USP 14-22.001 e USP 14-22.005; USP 14-22.006 e USP 14-22.010; USP 14-22.002, USP 14-22.003 e USP 14-22.004; USP 14-22.007, USP 14-22.008 e USP 14-22.009. O valor de $f = 0$ revela que o coeficiente de parentesco geral entre as dez linhagens é zero, ou seja, nenhum genitor contribuiu com alelos para as dez linhagens genitoras.

Tabela 4. Coeficientes de parentesco entre as dez linhagens experimentais genitoras do dialelo parcial 4x10 oriundas do programa de seleção recorrente do Laboratório de Genética Aplicada às Espécies Autógamas (LGAEA), Departamento de Genética, ESALQ/USP, Piracicaba-SP.

Genitor	14- USP 22.001	14- USP 22.002	14- USP 22.003	14- USP 22.004	14- USP 22.005	14- USP 22.006	14- USP 22.007	14- USP 22.008	14- USP 22.009	14- USP 22.010
USP 14-22.001	1,000	0,125	0,143	0,129	0,156	0,090	0,000	0,018	0,004	0,031
USP 14-22.002	0,125	1,000	0,125	0,125	0,125	0,000	0,037	0,000	0,000	0,000
USP 14-22.003	0,143	0,125	1,000	0,132	0,150	0,018	0,000	0,040	0,007	0,025
USP 14-22.004	0,129	0,125	0,132	1,000	0,134	0,004	0,000	0,007	0,052	0,009
USP 14-22.005	0,156	0,125	0,150	0,134	1,000	0,031	0,000	0,025	0,009	0,056
USP 14-22.006	0,090	0,000	0,018	0,004	0,031	1,000	0,125	0,143	0,129	0,156
USP 14-22.007	0,000	0,037	0,000	0,000	0,000	0,125	1,000	0,125	0,125	0,125
USP 14-22.008	0,018	0,000	0,040	0,007	0,025	0,143	0,125	1,000	0,132	0,150
USP 14-22.009	0,004	0,000	0,007	0,052	0,009	0,129	0,125	0,132	1,000	0,134
USP 14-22.010	0,031	0,000	0,025	0,009	0,056	0,156	0,125	0,150	0,134	1,000

Figura 3. Dendrograma obtido a partir da análise de agrupamentos hierárquicos utilizando as distâncias genéticas derivadas a partir das genealogias. A conexão entre os grupos foi realizada pelo método de Ward. Foram utilizadas as dez linhagens experimentais genitoras do dialelo parcial 4x10 oriundas do programa de seleção recorrente do Laboratório de Genética Aplicada às Espécies Autógamas (LGAEA), Departamento de Genética, ESALQ/USP, Piracicaba-SP.

A partir da análise de componentes principais para os 14 genitores do dialelo parcial e para os manejos com e sem controle da ferrugem (Figura 4), pode-se observar que para o manejo 2 (sem controle da ferrugem), ocorreu um predomínio de genótipos agrupados no lado direito, no sentido contrário dos vetores das variáveis, indicando inferioridade do ambiente. Entretanto, os genitores USP 14-22.009, USP 14-22.004 e USP 14 22-006 comportaram-se razoavelmente, mesmo na presença da doença, revelando potencial para tolerância à ferrugem.

O caráter PG apresentou associação positiva com os caracteres PCS, PEG e VA, enquanto que a variável NDR5 (período que antecede a granação) apresentou comportamento inverso com IC. Os genitores AS 7308 RR; USP 14-22.009; USP 14-22.008; USP 14-22.010; USP 14-22.006; V Max RR e BMX Potência RR apresentaram associação aos vetores das variáveis de interesse para o ambiente com controle de ferrugem, indicando bom potencial genético desses materiais.

Segundo o dendrograma para o ambiente médio (Figura 5. A), ocorreu a formação de quatro grupos de genitores: o primeiro contendo apenas a linhagem USP 14-22.009; o segundo com as linhagens USP 14-22.001 a USP 14-22.004; o terceiro com AS 7307 RR, V Max RR, BMX Potência RR e USP 14-22.006; e, o quarto com as demais linhagens genitoras. Estes resultados revelaram um certo padrão de agrupamento, similar ao que ocorreu com o dendrograma obtido a partir das genealogias dos dez genitores USP.

Na análise dos genitores individualmente para cada manejo com fungicidas (Figura 5 B), pode-se observar que ocorreu um agrupamento similar, resultando na formação de três grupos nos dois ambientes. Os únicos genitores que mostraram troca de agrupamentos foram USP 14-22.004 e BMX Potência RR. Estes resultados ocorreram, devido às performances similares dos genitores nos dois ambientes, ou seja, os efeitos da ferrugem mostraram valores próximos para quase todos os genitores.

A utilização de componentes principais e os agrupamentos possuem como vantagem a exploração prévia dos dados e a visualização das correlações entre as variáveis. É uma estratégia muito utilizada na análise de divergência ou similaridade genética, principalmente para a escolha de genitores, pois é possível agrupar os genótipos mais similares utilizando dados fenotípicos e que provavelmente possuem uma distância genética menor, fornecendo informações ao melhorista para direcionar os cruzamentos e possibilitar a obtenção de maiores ganhos genéticos (Bertan et al., 2007; Ferreira Júnior et al., 2015; Marconato et al., 2016; Oliveira et al., 2017)

Figura 4. Análise de componentes principais dos 14 genitores do dialelo parcial 4x10 utilizando as variáveis: Número de dias para R5 (NDR5); Escores da área foliar (EAF); Arquitetura da planta (AP); Altura de planta na maturidade (APM); Acamamento (AC), Valor agrônômico (VA), Número de dias para a maturidade (NDM); Período de granação ou enchimento de grãos (PEG); Índice de colheita (IC); Peso de cem sementes (PCS) e Produtividade de grãos (PG) para os manejo com e sem controle da ferrugem (letras em preto e vermelho, respectivamente). A proporção acumulada da variação foi de 33,24% e 58,91% com o componente principal 1 e 2, respectivamente.

Figura 5. Dendrograma derivado a partir da análise de agrupamentos hierárquicos utilizando as distâncias euclidianas baseadas nas 11 variáveis fenotípicas avaliadas e a conexão entre os grupos realizada pelo método de Ward. Foram analisados os 14 genitores do dialelo parcial 4x10, no manejo 1 (com controle da ferrugem), 2 (sem controle da ferrugem) e ambiente médio.

5.2. Análise dialélica univariada

De acordo com o gráfico meteorológico mostrado na Figura 2, as condições de temperatura e precipitação foram satisfatórias para o desenvolvimento da cultura. Por ser uma área de infestação natural da ferrugem, foi realizada amostragem para quantificar o processo de infecção da doença na área. Foi possível observar o rápido avanço da doença com o aumento da umidade, que também coincidiu com a entrada da maioria dos genótipos

no estágio R6, no qual a suscetibilidade à ferrugem tem sido bastante evidente (Godoy et al., 2016).

Não foi necessário a realização dos ajustes das médias com base nos genitores, devido ao efeito não significativo entre “conjuntos” e ou da interação “testemunhas x conjuntos”. O resumo da análise de variância está descrito nas Tabela 5 e tabela 6 para os 11 caracteres avaliados. Os coeficientes de variação variaram de 2,76% (NDM) a 24,48% (PG), sendo estes valores aceitáveis, principalmente por se tratar de experimentos a campo e com parcelas de área reduzida. Valores similares têm sido encontrados na literatura (Colombari Filho e Geraldi, 2014; Maia et al., 2009)

Os caracteres NDR5, AP, AC e VA não apresentaram efeitos significativos para os manejos com fungicidas, portanto não foram influenciados pela presença da doença. Por outro lado, os caracteres EAF, APM, NDM, PEG, IC, PCS e PG apresentaram efeitos significativos para os manejos com fungicidas, ou seja, todos estes sete caracteres foram influenciados pela ferrugem. As maiores reduções (perdas) provocadas pela ferrugem ocorreram nos caracteres PG (37,26%), PCS (30,85%), PEG (14,80%) e IC (8,78%). Resultados semelhantes foram obtidos por Kumudini et al. (2008), os quais observaram que a soja, quando na presença da ferrugem, apresentou decréscimos ou reduções nos caracteres: área foliar, tamanho e massa de sementes e índice de colheita.

De acordo com a Figura 2, o início da infecção com ferrugem começou a ocorrer apenas a partir da segunda avaliação, momento em que a maioria das plantas já se encontravam no estágio fenológico R₅. As variáveis AP e AC estão diretamente relacionadas com o engalhamento da planta e foram definidas antes do estabelecimento da infecção, fato este que pode justificar o efeito não significativo. Por se tratar de uma variável comparativa, a escala de notas de VA não captou diferenças significativas entre fungicidas. Para todas as variáveis, a maioria dos efeitos de CGC I e CGC II foram significativos, exceto o efeito de CGC I para EAF e VA, revelando que os genitores contribuíram com efeitos aditivos para as variáveis e, portanto, indicando diversidade genética entre eles.

Segundo a Tabela 7, para as variáveis PG, APM, AP, PCS e NDR5 ocorreu predominância de efeitos aditivos. Estes resultados são esperados, uma vez que para as espécies autógamas como a soja tem sido mais comum a ocorrência de desvios de dominância de pequena magnitude. Resultados semelhantes foram obtidos em trabalhos utilizando dialelo na geração F₂ (Mebrahtu; Devine, 2008 e Spehar, 1999). Ribeiro et al.

(2008), estudando ambientes com e sem a presença da ferrugem, observaram que a produtividade de grãos, em gerações F_2 e F_3 , mostrou herança poligênica e com predominância dos efeitos aditivos e que, provavelmente, os genótipos tolerantes da população deveriam apresentar comportamento genético similar.

Para CEC, ocorreu efeitos significativos apenas para NDM, PEG, IC e PCS, revelando que os efeitos não aditivos para estas características apresentaram maior importância. Esses resultados corroboram com os obtidos pela Tabela 7, em que a importância relativa da CGC (relação de Baker) para estes caracteres é de 0,495; 0,540; 0,606 e 0,844, respectivamente. Estes valores revelaram que, apesar de serem esperados baixos desvios de dominância, os mesmos podem ocorrer para algumas características, como o ciclo, o qual é governado por poucos genes de efeito maior (Suh et al., 2000; Watanabe et al., 2012), geralmente com alelos dominantes para precocidade. Para o índice de colheita, uma relação entre a produtividade de grãos e a biomassa produzida da parcela, a relação de Baker para produção de biomassa foi estimada em 0,60; indicando que as importâncias de CGC e CEC foram relativamente semelhantes.

A interação entre manejos de fungicidas e CGC I e II foi significativa para NDM e PCS, enquanto que para a interação com CEC mostrou-se significativa apenas para NDM. A baixa interação entre os genótipos e manejos de fungicidas pode estar relacionada com a origem dos genitores do grupo I, originários do programa de seleção recorrente para tolerância à ferrugem, no qual são selecionados genótipos com alta estabilidade, quando em contato com a doença. Estes resultados foram semelhantes aos obtidos por Jarvie e Shanahan (2009), que observaram baixa interação entre os genótipos tolerantes à ferrugem e os manejos. Estes mesmos autores estimaram correlações de Spearman entre os genótipos variando entre 0,701 e 0,916, nos ambientes com e sem ferrugem, valores estes superiores à estimativa de 0,530 obtida no presente trabalho.

A média de PG neste trabalho foi estimada em 4619 e 3365 kg ha⁻¹ para os manejos 1 e 2, respectivamente. Estes valores são maiores do que os encontrados por outros estudos de tolerância em ambientes sem e com ferrugem: 1451 e 1326 kg ha⁻¹ (Oloka et al. 2009), 3091 e 2729 kg ha⁻¹ (Jarvie e Shanahan 2009), 1841 e 1743 kg ha⁻¹ (Melo et al. 2015). Estes resultados, comparados com a média brasileira de 3334 kg ha⁻¹ (CONAB, 2017), revelaram o bom potencial dos materiais agora obtidos e avaliados, podendo-se esperar a obtenção de

novas linhagens com produtividade competitiva aos cultivares comerciais, mesmo com a presença da ferrugem, após as autofecundações e ciclos de seleção.

Tabela 5. Resumo da análise de variância dialélica conjunta dos ambientes com e sem controle da ferrugem da soja (maneios de fungicidas 1 e 2, respectivamente) para os caracteres: Número de dias para R5 (NDR5); Escore da área foliar (EAF); Arquitetura da planta (AP); Altura da planta na maturidade (APM); Acamamento (AC) e Valor agrônômico (VA); envolvendo 40 cruzamentos oriundos do dialelo parcial 4x10, Piracicaba-SP, ESALQ, 2016/17.

F.V	GI	Quadrados Médios											
		NDR5 (dias)		EAF ^t (nota)		AP ^t (nota)		APM (cm)		AC ^t (nota)		VA (nota)	
CGC I	9	228,10	**	0,02	ns	6,84E-02	ns	1455,00	**	0,29	*	0,37	ns
CGC II	3	662,90	**	0,23	**	2,03E-01	**	4287,00	**	0,51	**	0,92	**
F	1	2,00	ns	0,64	**	2,37E-03	ns	2774,00	**	0,10	ns	0,02	ns
B:F	6	131,90	**	0,12	**	1,45E-01	**	312,00	ns	0,27	*	0,67	**
CEC	27	58,30	ns	0,04	ns	4,54E-02	ns	248,00	ns	0,16	ns	0,34	ns
CGC I*F	9	40,00	ns	0,05	ns	2,76E-02	ns	171,00	ns	0,14	ns	0,31	ns
CGC II * F	3	65,50	ns	0,01	ns	5,88E-02	ns	917,00	**	0,53	**	0,54	ns
CEC*F	27	33,60	ns	0,03	ns	4,00E-02	ns	256,00	ns	0,15	ns	0,21	ns
Erro	234	39,90		0,03		4,11E-02		234,00		0,12		0,23	
Média manejo 1		93,63		3,46		3,92		98,10		1,56		3,33	
Média manejo 2		93,79		3,79		3,89		92,22		1,51		3,32	
Média geral		93,71		3,63		3,90		95,16		1,53		3,53	
C.V. (%)		6,74		9,73		10,32		16,09		20,16		14,53	

**, *, ns: significativo a 1% e 5% e não significativo, respectivamente, pelo teste F.

^t: Valores transformados pela expressão $(x)^{0.5}$.

CGC I, II, F, B, CEC, C.V.: Capacidade Geral de combinação do grupo I de genitores, grupo II, manejo de fungicida, bloco, capacidade específica de combinação e coeficiente de variação, respectivamente.

Tabela 6. Resumo da análise de variância dialélica conjunta dos ambientes com e sem controle da ferrugem da soja (maneios de fungicidas 1 e 2, respectivamente) para os caracteres: Número de dias para maturidade (NDM); Período de granação ou enchimento de grãos (PEG); Índice de colheita (IC); Peso de cem sementes (PCS) e Produtividade de grãos (PG); envolvendo 40 cruzamentos oriundos do dialelo parcial 4x10, Piracicaba-SP, ESALQ, 2016/17.

F.V.	GI	Quadrados Médios									
		NDM (dias)		PEG (dias)		IC		PCS (g)		PG (kg ha ⁻¹)	
CGC I	9	172,20	**	65,80	*	3,92E-03	*	17,20	**	3071020	**
CGC II	3	45,70	*	189,40	**	2,00E-02	**	10,90	**	10609424	**
F	1	1629,00	**	1373,70	**	8,60E-02	**	1091,40	**	125815615	**
B:F	6	21,70	ns	42,80	ns	2,10E-03	ns	6,70	**	3015717	**
CEC	27	57,10	**	54,00	*	3,24E-03	**	2,30	*	1118314	ns
CGC I * F	9	60,30	**	43,10	ns	3,79E-03	ns	3,50	**	515404	ns
CGC II * F	3	48,70	*	41,80	ns	1,43E-02	**	8,50	**	374946	ns
CEC * F	27	22,30	*	26,30	ns	2,24E-03	ns	0,80	ns	617191	ns
Erro	234	13,40		34,10		1,69E-03		1,40		954995	
Média manejo 1		134,85		32,13		0,41		15,67		4619,58	
Média manejo 2		130,34		27,99		0,37		11,97		3365,51	
Média geral		132,59		30,06		0,39		13,82		3992,54	
C.V. (%)		2,76		19,42		10,54		8,59		24,48	

**, *, ns: significativo a 1% e 5% e não significativo, respectivamente, pelo teste F.

^t: Valores transformados pela expressão $(x)^{1/2}$.

CGC I, II, F, B, CEC, C.V.: Capacidade Geral de combinação do grupo I de genitores, grupo II, manejo de fungicida, bloco, capacidade específica de combinação e coeficiente de variação, respectivamente.

Tabela 7. Estimativas dos componentes quadráticos para capacidade geral (ϕ CGCgI e ϕ CGCgII) e específica (ϕ CEC) de combinação para os caracteres: Número de dias para R5 (NDR5); Escores da área foliar (EAF); Arquitetura da planta (AP); Altura de planta na maturidade (APM); Acamamento (AC); Valor agrônomo (VA); Número de dias para maturidade (NDM); Período de granação e enchimento de grãos (PEG); Índice de colheita (IC); Peso de cem sementes (PCS) e Produtividade de grãos (PG), obtidos a partir de um dialelo parcial 4x10 na geração F₂. Piracicaba-SP, ESALQ, 2016/17.

	NDR5	EAF	AP	APM	AC	VA	NDM	PEG	IC	PCS	PG
ϕ CGCgI	5,881	-4,41E-04	8,55E-04	38,156	5,33E-03	4,17E-03	4,962	0,990	6,97E-05	0,493	66126
ϕ CGCgII	7,787	2,42E-03	2,03E-03	50,662	4,94E-03	8,52E-03	0,403	1,941	2,29E-04	0,118	120680
ϕ CEC	2,300	1,28E-03	5,33E-04	1,750	5,73E-03	1,38E-02	5,462	2,487	1,94E-04	0,1125	20415
Relação de Baker ¹	0,855	0,608	0,844	0,980	0,641	0,478	0,495	0,540	0,606	0,844	0,901

¹Relação de Baker:
$$\frac{(\phi \text{CGCgI} + \phi \text{CGCgII})}{(\phi \text{CGCgI} + \phi \text{CGCgII} + \phi \text{CEC})}$$

Para as variáveis com interação significativa para manejo foi realizada a análise de capacidade de combinação para os maneios 1, 2 individualmente e também para o ambiente médio. Já para as variáveis com interação não significativa, foi realizada a análise da capacidade de combinação apenas para o ambiente médio. Para simplificar a visualização dos resultados, as interações CGC II * F para APM, AC e IC foram desconsideradas.

Na figura 6, estão apresentadas as estimativas de capacidades geral e específica de combinação no ambiente médio. Para a variável altura da planta na maturidade (APM), apenas os efeitos aditivos (CGC) dos genitores foram significativos; neste caso, a seleção deve ser para plantas de menores portes (CGC com cor azul na Fig.6), portanto, se destacaram os genitores L08 e L10 no grupo II (dez linhagens experimentais) e o genitor C01 no grupo I (quatro cultivares comerciais). Efeito similar ocorreu para o número de dias para R5 (NDR5), de maneira que devem ser preferidos genitores com menor ciclo, tendo havido destaque dos genitores L06, L07 e C04, marcados em azul na Fig.6.

Para o índice de colheita (IC), as linhagens genitoras L08, L09 e L10 e C04 apresentaram as maiores CGC e o cruzamento entre eles também apresentou estimativa de CEC relativamente alta, sendo os genótipos mais promissores (cor rosa a vermelho na Fig.6) para IC. Em relação ao período de granação ou enchimento de grãos (PEG), deseja-se genótipos com o maior número de dias (cor vermelha na Fig.6); portanto, os genitores L06, L07 e C04 se destacaram pelos efeitos aditivos (CGC) e os cruzamentos C02 x L03, C02 x L06, C04 x L03 e C04 x L07 para a CEC.

Em um programa de melhoramento, comumente a produtividade de grãos é o caráter mais importante ou, pelo menos, acompanha outros caracteres relevantes. Por esta razão, esta variável tem sido uma das mais decisivas na escolha dos genitores. Os genitores que mais se destacaram (cor vermelha na Fig.6) com alta estimativa de CGC para PG foram C03, L10, L07 e L08; já os cruzamentos mais promissores foram C03 x L09, C03 x L10, C04 x L03 e C04 x L04.

As variáveis que apresentaram efeito significativo para a interação genótipos x fungicidas foram peso de cem sementes (PCS) e número de dias para a maturidade (NDM). Este fato ocorreu devido ao comportamento diferenciado entre os genótipos nos diferentes ambientes. Na Figura 7, para PCS houve destaques (em vermelho) dos genitores C01, L03 e L09 com os maiores efeitos aditivos (CGC) para o manejo de fungicidas 1, enquanto que para o manejo 2 os destaques foram C03, L06, L07 e L09. Para o ambiente médio, se destacaram C01, L03 e L09 para os efeitos aditivos (CGC) e os cruzamentos C03 x L06 e C03 x L09 para os efeitos não aditivos (CEC).

Para a variável número de dias para a maturidade (NDM), os destaques em precocidade (cor azul na Fig.7) foram: a) no manejo de fungicidas 1, os genitores C03, L01, L2 e L03 para efeitos aditivos (CGC) e para os efeitos não aditivos (CEC), os cruzamentos C01 x

L01, C01 x L02, C03 x L03 e C04 x L05; b) no manejo de fungicidas 2, realçaram-se em precocidade os genitores C04, L06 e L07 e o cruzamento C04 x L07; c) no ambiente médio, destaques em precocidade ocorreram nos genitores C04, C03, L06 e L07 com alta CGC, enquanto que para os efeitos não aditivos (CEC) destacaram-se os cruzamentos C01 x L01, C01 x L02 e C04 x L07.

Figura 6. Heat map das estimativas das capacidades gerais (CGC) e específicas (CEC) de combinações oriundas do dialelo parcial 4x10 na geração F_2 , para os caracteres: Período de enchimento de grão (PEG); Produtividade de grãos (PG); Número de dias para R5 (NDR5); Altura de planta na maturidade (APM); e Índice de colheita (IC); para o ambiente médio.

Figura 7. Heat map das estimativas das capacidades gerais (CGC) e específicas (CEC) de combinações oriundas do diallelo parcial 4x10 na geração F₂, para os caracteres: Número de dias para maturidade (NDM) e peso de cem sementes (PCS), para os manejos de fungicidas 1 e 2 (ambientes com e sem controle para ferrugem, respectivamente) e médio.

5.3. Índices de seleção para tolerância à ferrugem

De acordo com a Tabela 8, o teste de agrupamento de médias de Scott-Knott agrupou os cruzamentos em duas classes quanto à produtividade de grãos (PG), para os manejos 1 e 2. No manejo 1 (com controle da ferrugem) foram reunidos 12 cruzamentos e no manejo 2 (sem controle da ferrugem) dez cruzamentos foram incluídos na classe dos mais produtivos, destacando-se os cruzamentos C33, C34, C73, C83, C93, C102 e C103 nos dois manejos de fungicidas.

Para a identificação dos cruzamentos mais promissores em tolerância à ferrugem, utilizou-se os índices de tolerância a estresse. De acordo com a Tabela 8 A, pode-se constatar que os índices de suscetibilidade ao estresse (ISE) e o modelo linear (ML) estão associados, indicando as diferenças de produtividade entre os dois manejos. Os cruzamentos C62, C41, C91 e C103 destacaram-se com as menores estimativas de ISE, evidenciando que estes cruzamentos foram os mais tolerantes à ferrugem. Por outro lado, os maiores ISE ocorreram nos cruzamentos C14, C42 e C12, os quais seriam os mais sensíveis à ferrugem.

Ao considerar os índices que estão relacionados ao índice de tolerância, MGP; ITE e MH, pode-se observar que estes também apresentaram altas correlações (Figura 8.A) entre si, classificando os cruzamentos C12, C41 e C61 como os mais sensíveis. Por outro lado, os cruzamentos C34, C93 e C103 seriam os mais tolerantes, estando detalhados na síntese feita anteriormente. Estes três índices mostrados possuem resultados semelhantes aos obtidos pelo teste Scott-Knott.

Tabela 8. Valores médios de produtividade de grãos nos manejos 1 (M1) e 2 (M2) de fungicidas e os índices de tolerância à ferrugem calculados a partir destes valores. Média geométrica da produtividade (MGP), Índice de Tolerância ao Estresse (ITE), Índice de Suscetibilidade ao Estresse (ISE), Média Harmônica (MH) e Modelo Linear (ML).

Cruzamento*	Manejo 1**		Manejo 2**		MGP	MH	ML	ITE	ISE
-----kg ha ⁻¹ -----									
C11	4171,71	B	3022,53	B	3550,93	3505,34	1149,18	3,37E-04	1,015
C12	4210,82	B	2160,66	B	3016,32	2855,90	2050,16	2,99E-04	1,793
C13	3870,00	B	3120,18	B	3474,92	3454,87	749,82	3,28E-04	0,714
C14	4660,00	B	2655,00	B	3517,43	3382,72	2005,00	3,43E-04	1,585
C21	3887,62	B	2864,66	B	3337,17	3298,65	1022,96	3,16E-04	0,969
C22	4545,00	B	2884,07	B	3620,51	3528,87	1660,93	3,48E-04	1,346
C23	5598,94	A	3429,59	B	4382,01	4253,64	2169,35	4,23E-04	1,427
C24	4753,37	B	3298,17	B	3959,47	3894,27	1455,19	3,77E-04	1,128
C31	4475,37	B	3087,21	B	3717,04	3653,89	1388,16	3,54E-04	1,143
C32	4955,00	A	2913,89	B	3799,78	3669,72	2041,11	3,69E-04	1,517
C33	5291,47	A	4147,06	A	4684,45	4649,88	1144,41	4,42E-04	0,797
C34	5905,00	A	4015,02	A	4869,16	4779,97	1889,98	4,65E-04	1,179
C41	3338,15	B	3091,41	B	3212,41	3210,05	246,74	3,01E-04	0,272
C42	4925,00	A	2785,55	B	3703,89	3558,46	2139,45	3,61E-04	1,600
C43	4536,18	B	3358,25	B	3903,03	3859,33	1177,93	3,70E-04	0,957
C44	4547,01	B	3825,03	A	4170,43	4154,89	721,98	3,92E-04	0,585
C51	4582,59	B	2663,77	B	3493,85	3369,13	1918,82	3,40E-04	1,542
C52	4300,60	B	3246,35	B	3736,47	3699,84	1054,25	3,54E-04	0,903
C53	4600,00	B	3215,00	B	3845,65	3784,77	1385,00	3,66E-04	1,109
C54	3762,86	B	3038,92	B	3381,57	3362,37	723,94	3,19E-04	0,709
C61	4145,08	B	2602,84	B	3284,66	3197,72	1542,24	3,16E-04	1,371
C62	4183,36	B	4051,00	A	4116,65	4116,12	132,35	3,86E-04	0,117
C63	5239,13	A	3445,00	B	4248,39	4156,73	1794,13	4,07E-04	1,261
C64	3895,61	B	2899,12	B	3360,63	3324,29	996,49	3,18E-04	0,942
C71	4465,97	B	3730,00	A	4081,43	4064,94	735,97	3,84E-04	0,607
C72	4243,19	B	3304,81	B	3744,72	3715,67	938,38	3,54E-04	0,815
C73	5171,78	A	4450,00	A	4797,34	4783,82	721,78	4,51E-04	0,514
C74	4028,44	B	3201,75	B	3591,39	3567,83	826,68	3,39E-04	0,756
C81	5016,75	A	3523,00	B	4204,05	4139,24	1493,75	4,00E-04	1,097
C82	4683,05	B	3263,70	B	3909,48	3846,62	1419,36	3,72E-04	1,116
C83	5730,00	A	4065,00	A	4826,23	4755,99	1665,00	4,59E-04	1,070
C84	3993,14	B	3505,00	B	3741,12	3733,18	488,14	3,51E-04	0,450
C91	3698,17	B	3353,47	B	3521,61	3517,40	344,70	3,30E-04	0,343
C92	4789,52	B	3366,81	B	4015,64	3954,08	1422,71	3,82E-04	1,094
C93	5918,68	A	4541,02	A	5184,29	5139,12	1377,66	4,90E-04	0,857
C94	4303,70	B	3188,44	B	3704,33	3663,06	1115,25	3,51E-04	0,955
C101	4655,00	B	2983,77	B	3726,86	3636,57	1671,23	3,58E-04	1,323
C102	5308,59	A	3860,00	A	4526,72	4469,86	1448,59	4,30E-04	1,005
C103	5661,75	A	4909,36	A	5272,15	5258,78	752,38	4,95E-04	0,490
C104	4735,51	B	3553,82	B	4102,33	4060,43	1181,69	3,88E-04	0,919

*Os cruzamentos foram Identificados na Tabela 1, no qual o primeiro número se refere ao genitor do primeiro grupo e o último número se refere ao genitor do segundo.

**Médias seguidas por mesma letra na coluna, são agrupadas no mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 10% de significância.

Os resultados da análise de componentes principais dos índices de seleção para tolerância à ferrugem estão apresentados na Figura 8-A. Pode-se observar que os índices de sensibilidade ISE e ML estão associados, e os vetores dos índices de tolerância ITE, MPG e MH apresentaram-se entre os vetores do manejo 1 e 2. Os índices de sensibilidade e tolerância mostraram angulação próxima de 90°, revelando pouca associação entre eles.

Segundo a análise de componentes principais, os cruzamentos C42, C32, C14 e C51 apresentaram-se mais associados aos índices de sensibilidade à ferrugem. Por outro lado, os cruzamentos C102, C33, C83, C93, C103 e C73 nos Manejos 1 e 2 associaram-se aos índices de tolerância. Estes resultados podem ser confirmados pela Figura 8-B. Nesta figura, o cruzamento C62 apresentou a maior tolerância (menor diferença entre os manejos 1 e 2), porém a análise de componentes principais não associou este genótipo como sendo o mais promissor. Este fato deveu-se à baixa adaptabilidade do genótipo, produzindo insatisfatoriamente em ambos os ambientes, porém com maior estabilidade. Com isto, pode-se considerar como sendo mais eficiente o uso combinado de índices e análise de componentes principais, para a identificação de genótipos mais tolerantes, estáveis e adaptados.

A condução de experimentos em pelo menos dois manejos de fungicidas, com e sem controle da ferrugem mostrou-se eficiente na identificação de genótipos com potencial de produtividade satisfatório em ambas as condições de cultivo. Tradicionalmente, a identificação de genótipos tolerantes é devida à diferença de produtividade entre parcelas com e sem a presença da doença. Esta abordagem tem a limitação de não mensurar a adaptabilidade da parcela, por isto a utilização de índices é justificada.

Por se tratar de experimentos instalados em ambiente separados, há dificuldade em se realizar testes de significância entre os manejos de fungicidas. Visando verificar a significância da estimativa do efeito ferrugem e identificar os cruzamentos tolerantes, Pereira et al. (2008), avaliando cruzamentos em geração F₄, utilizou o teste t pareado para duas amostras dependentes.

Outra abordagem normalmente utilizada para a identificação de genótipos tolerantes é a análise de adaptabilidade e estabilidade, proposta por Jarvie e Shanahan (2009), para a ferrugem da soja. Espera-se que um genótipo tolerante produza satisfatoriamente em ambos os ambientes, ou seja, mantendo-se estável. Esta abordagem possui como desvantagem o requerimento de maior número de ambientes, podendo ser

limitada principalmente nos primeiros estágios de melhoramento, no qual cada genótipo possui um número pequeno de sementes.

Os resultados obtidos nesta pesquisa sugeriram que a utilização de índices para a identificação de genótipos tolerantes a estresses bióticos pode ser uma alternativa às metodologias tradicionalmente propostas. A utilização de componentes principais para diminuir o número de variáveis e a associação entre os índices é eficiente na identificação de cruzamentos promissores. Estes resultados corroboram aqueles obtidos por Jafaria et al. (2009) e Sio-Se Mardeh et al. (2006) em pesquisas sobre a tolerância a estresses abióticos.

Figura 8. (A) Análise de componentes principais dos 40 cruzamentos oriundos do dialelo parcial 4x10 na geração F_2 utilizando as variáveis: Índice de Suscetibilidade ao Estresse (ISE); Modelo Linear (ML); Índice de Tolerância ao Estresse (ITE); Média geométrica da produtividade (MGP); Média Harmônica (MH); Manejo 1 (M1) e Manejo 2 (M2). (B) Relação dos 40 cruzamentos oriundos do dialelo parcial 4x10 na geração F_2 nos ambientes com e sem controle de ferrugem (M1 e M2, respectivamente). A linha contínua descreve a equação $X = Y$, no qual os genótipos mais próximos a ela apresentam maior tolerância à ferrugem. Piracicaba-SP, ESALQ, 2016/17. A proporção acumulada da variação foi de 66,23% e 99,85% com o componente principal 1 e 2, respectivamente.

5.4. Análises de correlações e trilha entre caracteres para cada ambiente

Na Figura 9, pode-se observar os coeficientes de correlação entre as 11 variáveis nos manejos de fungicidas 1 e 2. Para o manejo 1, não ocorreram correlações significativas entre

PCS e as outras variáveis. Entretanto, no manejo 2 (sem controle da ferrugem), o PCS apresentou elevadas correlações negativas com NDR5 e NDM (-0,45 e -0,42, respectivamente) e correlações positivas com VA (0,45). O IC mostrou correlações negativas com NDR5, APM e NDM para ambos os manejos, sugerindo que plantas de ciclos longos e altas contribuíram negativamente na conversão de biomassa em produtividade de grãos, havendo um desbalanço na relação fisiológica fonte:dreno.

A variável PEG possuiu correlações negativas com NDR5 nos dois manejos, sugerindo que plantas que demoraram para alcançar a granação, possuíram menor período de granação ou enchimento de grãos. Assim, a quantidade de dias para R_5 pode interferir na quantidade de acúmulo de matéria seca nos grãos, reduzindo a produtividade, além de alongarem o ciclo, devido à correlação positiva com NDM.

Para a variável PG, no manejo 1, esta apresentou correlação significativa apenas com VA (0,50). Entretanto, quando em contato com a ferrugem, PG apresentou correlações significativas com IC, NDM e VA (0,38; -0,38 e 0,55, respectivamente). Estes resultados revelaram que em um ambiente sem a presença da doença, a produtividade não é influenciada diretamente pelos caracteres avaliados. Porém, na presença da doença, os caracteres avaliados possuíram influência na produtividade, possivelmente em consequência da resposta diferencial dos genótipos à ferrugem. As correlações, tanto positiva quanto negativa, possibilita a utilização de seleção indireta para produtividade, principalmente quando se tem o interesse de obter ganho para um caráter de baixa herdabilidade (Falconer, 1989), como a produtividade de grãos.

Figura 9. Coeficientes de correlação de Person entre os caracteres avaliados nos manejos com controle (A) e sem controle (B) da ferrugem para os caracteres: Número de dias para R₅ (NDR5); Escores da área foliar (EAF); Arquitetura da planta (AP); Altura da planta na maturidade (APM), Acamamento (AC) e Valor agrônomo (VA) dos 40 cruzamentos oriundos do dialelo parcial 4x10. Valores de correlação superiores a 0,30 e inferiores a -0,30 foram significativos pelo teste t.

Os efeitos diretos de cada variável sobre a produtividade de grãos podem ser observados por meio da análise de trilha (Figura 10). O coeficiente de determinação da análise de trilha foi de 0,414 e 0,536 para os manejos 1 e 2, respectivamente. Coeficientes de determinação com magnitude reduzida como estes, podem estar associados a outras características não avaliadas nesta pesquisa, as quais poderiam ter contribuído significativamente para a PG (Carvalho et al., 2002).

Segundo a figura 10, a variável que obteve os maiores efeitos diretos para a PG foi o VA, com efeitos de 0,606 e 0,697 no manejo 1 e 2, respectivamente. Devido a correlação entre PG e VA serem semelhantes aos efeitos diretos, pode-se concluir que esta correlação explica a verdadeira associação existente (Vencovsky e Barriga, 1992). Esses resultados indicam que é possível a seleção indireta para tolerância à ferrugem, pela utilização do VA. Outro fato interessante sobre esta variável, é que não apresentou diferenças significativas para o manejo de fungicida na análise de variância, porém apresentou efeitos significativos para genótipos (Tabela 6). VA foi eficiente em identificar os cruzamentos mais produtivos dentro de cada manejo de fungicida, porém não entre experimento, podendo ser explicado por se tratar de uma escala de nota comparativa entre parcelas de um mesmo experimento.

Nogueira et al. (2015) reportaram que o uso do número de vagens está altamente associado com produtividade de grãos, quando em contato com a ferrugem. Esta abordagem, apesar de precisa, tem como dificuldade a fenotipagem deste caráter. Os resultados da análise de trilha sugeriram a possibilidade da utilização do VA para a seleção de plantas tolerantes dentro do manejo 2 (sem controle da ferrugem). Comprovando que, apesar da dificuldade de identificar uma planta tolerante, já que os sintomas podem ser muito semelhantes aos de uma planta sensível (Newton, 2016), é possível identificar os cruzamentos mais produtivos, na presença ou ausência da doença.

Foi observado que o ciclo possui efeito direto sobre a produtividade de -0,287 no manejo 2. Resultados semelhantes foram obtidos por Kawuki; Tukamuhabwa; Adipala (2004), nos quais os autores concluíram que a tolerância a ferrugem estava associada a genótipos com ciclo mais precoces. Porém, Melo et al., (2015), ao estudar cultivares de soja tolerantes, observou que alguns genótipos, mesmo possuindo ciclo longo e em contato com a ferrugem, possuíam a capacidade de manter a produtividade.

O estudo da arquitetura de planta e os componentes da produção são cruciais para entender a produtividade de grãos, em razão da herança quantitativa destes caracteres (Zhang et al., 2015). A arquitetura da planta está associada também a outros caracteres, como altura da planta e acamamento. A análise de trilha no manejo 2 (sem controle da ferrugem), revelou que as variáveis de arquitetura da planta afetaram diretamente a PG. A variável AP obteve efeitos diretos de 0,242; corroborando com as teorias de que a tolerância da planta a doenças foliares podem estar relacionada ao nível populacional, no qual a ocupação espacial das plantas pode proporcionar uma absorção de luz mais eficiente

(Newton et al., 2012) e microclima menos favorável à doença (Pangga et al., 2013; Tivoli et al., 2013). Outra vantagem associada a uma arquitetura da planta mais favorável é o aumento da eficiência no controle químico da doença, devido a uma maior penetração de fungicidas no dossel da planta (Ando et al., 2007).

A variável AC também apresentou efeitos diretos sobre a PG de 0,332 e 0,584 para os manejos 1 e 2, respectivamente. Esses valores aparentemente são discordantes aos observados na literatura, porém as médias de acamamento no manejo 1 e 2 foram relativamente baixas (1,56 e 1,51; e com desvios padrões de 0,482 e 0,350, respectivamente). Provavelmente, as plantas que apresentaram as maiores notas de acamamento não chegaram a comprometer a produtividade.

Figura 10. Representação gráfica do modelo de análise de trilha de cadeia dupla. As linhas contínuas indicam os efeitos diretos sobre a variável dependente (Produtividade de grãos, PG), enquanto que as linhas seccionadas mostram a correlação entre as variáveis primárias (Peso de cem sementes, PCS; Índice de colheita, IC; Período de enchimento de grão, PEG). As variáveis secundárias são representadas por: Escores da área foliar (EAF); Arquitetura da planta (AP); Altura de planta na maturidade (APM), Acamamento (AC), Valor agrônômico (VA) e número de dias para maturidade (NDM).

5.5. Análise dialélica multivariada

As abordagens anteriormente relatadas possuem como limitação a utilização de várias variáveis simultaneamente durante o processo de seleção. Para contornar este problema, a análise dialélica multivariada leva em consideração as correlações entre os caracteres para obter as informações de CGC e CEC.

As análises de variância dialélica multivariada estão apresentadas na tabela 9 para os manejos 1 e 2, individualmente. Para o ambiente com controle da ferrugem da soja, os

efeitos aditivos (CGC I e CGC II) e não-aditivos (CEC) foram significativos, para as características adaptativas e reprodutivas, indicando que os genitores apresentaram alelos complementares e as características puderam ser analisadas juntas na análise dialélica multivariada (Amaral et al., 2004; Benin et al., 2009; Ledo et al., 2003; Nascimento et al., 2010; Teodoro et al., 2017). Para o manejo 2 (sem controle da ferrugem), apenas os efeitos aditivos (CGC I e CGC II) foram significativos para as variáveis adaptativas e, para as variáveis reprodutivas, apenas CGC II. A não significância dos efeitos não aditivos indicam que, para a CEC, as variáveis não apresentaram complementariedade e, portanto, não poderão ser analisadas juntas na análise dialélica multivariada.

Tabela 9. Sumário da análise dialélica multivariada (MANOVA) para os manejos com e sem controle da ferrugem, manejos 1 e 2, respectivamente). Os caracteres adaptativos referem-se a: número de dias para R5 (NDR5); escores da área foliar (EAF); arquitetura da planta (AP); altura da planta na maturidade (APM); acamamento (AC), valor agrônômico (VA), número de dias para maturidade (NDM). Os caracteres reprodutivos são representados por: período de granação ou de enchimento de grãos (PEG); índice de colheita (IC); peso de cem sementes (PCS) e produtividade de grãos (PG). Piracicaba-SP, ESALQ, 2016/17

SI, LSAREQ, 2010/17													
F.V.	Gl.	Manejo 1 (com controle da ferrugem)						Manejo 2(sem controle da ferrugem)					
		Adaptativo			Reprodutivo			Adaptativo			Reprodutivo		
		Wilks	Pr(>F)		Wilks	Pr(>F)		Wilks	Pr(>F)		Wilks	Pr(>F)	
CGC I	9	0,254	0	**	0,48	0	**	0,395	0	**	0,676	0,111	ns
CGC II	3	0,475	0	**	0,53	0	**	0,399	0	**	0,707	0	**
B	3	0,693	0,004	**	0,749	0,001	**	0,631	0	**	0,757	0,001	**
CEC	27	0,144	0,004	**	0,318	0,009	**	0,181	0,092	ns	0,365	0,089	ns
Erro	117												

**, *, ns: significativo a 1% e 5% e não significativo, respectivamente, pelo teste de aproximação do F (Harris, 1975).

CGC I, II, B, CEC: Capacidade Geral de combinação do grupo I e II de genitores, bloco, capacidade específica de combinação, respectivamente.

Gl. Graus de liberdade.

De acordo com a tabela 10 e a figura 11, pode-se observar o coeficiente de correlação de cada componente principal e os caracteres. Para o ambiente com controle da ferrugem (Manejo 1), o primeiro componente principal (PC1) mostrou-se associado a valores de altura e acamamento, enquanto que o PC2 se associou com valores negativos de NDR5 e o PC3 com níveis baixos de valor agrônômico e arquitetura da planta. Considerando isto, o ideótipo desejado seria genótipos com valores negativos de PC1 e PC3 e valores positivos de PC2. Os destaques no primeiro grupo foram os genitores L6, L8, L10 e C01 e os cruzamentos C01 x L01e C01 x L03

Considerando o manejo sem controle da ferrugem (Manejo 2) e as características adaptativas, o PC1' associou-se com ciclo longo e baixo valor agrônômico, PC2' com plantas baixas e baixo escore de área foliar e PC3' com plantas eretas e com arquitetura da planta favorável. Baseado nisso, o ideótipo desejado corresponderia a genótipos com baixo PC1' e altos PC2' e PC3', com destaque dos genitores L10, L07 e C04 com maiores contribuições para a CGC.

Para as características reprodutivas no manejo 1 (com controle da ferrugem), o PC4 associou-se aos genótipos com período de granação ou enchimento de grãos curto e índice de colheita alto, o PC5 com baixa produtividade e maior PCS e PC6 com baixa PG e período de granação ou enchimento de grãos longo. Consequentemente, o ideótipo desejado seriam plantas com alto PC4 e valores baixos de PC5 e PC6. Os destaques em CGC foram os genitores C03, L08 e L10 e, para CEC, os cruzamentos L03 x C01, L04 x C02 e L08 x C03.

Para os caracteres reprodutivos, o PC4' associou-se negativamente com todas as variáveis, PC5' com baixa produtividade de grãos e longo período de granação ou enchimento de grãos e o PC6' com alto peso de cem sementes. Baseado nisto, o ideótipo desejado seriam os genótipos com valores baixos de PC4' e PC5' e alto PC6'. Considerando apenas a significância da CGC do grupo II, o genitor C03 foi o que mais contribuiu com características favoráveis e próximo do ideótipo.

No ambiente com controle da ferrugem (Manejo 1), para a seleção de plantas baixas e arquitetura ereta, com ciclo menor e com alto valor agrônômico sobressaíram os genitores USP 14-22.006, USP 14-22.008 e USP 14-22.010 e o M-SOY 7908 RR e os cruzamentos M-SOY 7908 RR x USP 14-22.001 e M-SOY 7908 RR x USP 14-22.003. Entretanto, para a seleção de plantas com índice de colheita alto, produtivas, com maior tamanho (PCS) de sementes e maior período de granação ou enchimento de grãos, destacaram-se os genitores V Max RR, USP 14-22.008 e USP 14-22.010 e os cruzamentos USP 14-22.003 x M-SOY 7908 RR, USP 14-22.004 x AS 7307 RR e USP 14-22.008 x V Max RR.

Considerando o manejo sem o controle da ferrugem (Manejo 2), apenas os efeitos da CGC foram significativos, sendo possível apenas a identificação dos genitores que contribuíram com efeitos aditivos. Portanto, os genitores USP 14-22.010, USP 14-22.007 e BMX Potência RR proporcionaram a seleção de plantas precoces, baixas, eretas e com arquitetura favorável. Entretanto, para a seleção de genótipos produtivos, maior período de granação ou enchimento de grãos maior e sementes maiores destacou-se o genitor V Max RR.

Esses resultados comprovaram a eficiência da utilização do dialelo multivariado para um estudo mais detalhado das combinações de CGC e CEC, juntamente com a possibilidade da seleção de genitores com o intuito de melhorar determinados caracteres simultaneamente. Resultados semelhantes foram obtidos na literatura por diversos autores, comprovando a eficiência deste tipo de análise (Benin et al., 2009; Jung et al., 2007; Teodoro et al., 2017).

Tabela 10. Correlações de Pearson entre os caracteres avaliados e os componentes principais para os manejos com e sem controle da ferrugem, manejos 1 e 2, respectivamente. Os caracteres adaptativos referem-se a: Número de dias para R5 (NDR5); escores da área foliar (EAF); Arquitetura da planta (AP); Altura da planta na maturidade (APM); Acamamento (AC), Valor agrônômico (VA), Número de dias para a maturidade (NDM). Estes caracteres estão correlacionados com PC1, PC2 e PC3 para o manejo 1 e PC1', PC2' PC3' para o manejo 2. Os caracteres reprodutivos são: Período de granação ou enchimento de grãos (PEG); Índice de colheita (IC); Peso de cem sementes (PCS) e Produtividade de grãos (PG), correlacionados com PC4, PC5 e PC6 para o manejo 1 e PC4', PC5' e PC6' para o manejo 2. Piracicaba-SP, ESALQ, 2016/17.

Caráter	Manejo 1			Manejo 2		
	PC1	PC2	PC3	PC1'	PC2'	PC3'
	Adaptativo			Adaptativo		
EAF	-0,37	-0,3	0,26	0,32	-0,55	0,3
NDR5	-0,09	-0,93	-0,11	0,84	0,12	0,28
AP	0,62	0,14	-0,42	-0,48	-0,55	0,5
APM	0,89	0,15	-0,08	-0,19	-0,86	-0,3
VA	-0,3	0,2	-0,79	-0,78	-0,13	0,21
AC	0,76	-0,07	0,39	0,63	-0,49	-0,55
NDM	0,38	-0,8	-0,29	0,76	-0,19	0,48
P.A. (%)	30,58	54,65	70,63	37,85	61,42	76,76
Caráter	PC4	PC5	PC6	PC4'	PC5'	PC6'
	Reprodutivo			Reprodutivo		
PEG	-0,69	-0,06	0,61	-0,67	0,48	-0,42
IC	0,84	-0,07	0,02	-0,76	-0,24	-0,35
PG	-0,46	-0,59	-0,61	-0,64	-0,64	0,24
PCS	-0,31	0,83	-0,39	-0,62	0,43	0,64
P.A (%)	37,46	63,68	86,35	45,51	67,66	86,72

P.A. = Proporção da variação acumulada

Figura 11. Heat map das estimativas das capacidades gerais (CGC) e específicas (CEC) de combinações obtidos a partir da análise de componentes principais para as características adaptativas e reprodutivas nos manejos com (A) e sem (B) controle para a ferrugem. A direção e as cores das setas indicam o ideotipo ideal para os determinados componentes principais.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitiram as seguintes conclusões:

- A. A base genética dos genitores oriundos do programa de seleção recorrente revelou diversidade genética, boa capacidade de tolerância à ferrugem e desempenho similar nos dois manejos;
- B. Para a produtividade de grãos, os efeitos aditivos foram mais importantes que os não aditivos;
- C. A ferrugem afetou a produtividade de grãos diminuindo o peso das sementes, índice de colheita e o período de granação;
- D. As produtividades dos cruzamentos superaram a média nacional, havendo potencial de obtenção de linhagens produtivas, mesmo em contato com o fungo;
- E. Houve eficiência da utilização de índices, aliada às análises multivariadas, para identificar os cruzamentos mais sensíveis e os mais tolerantes à ferrugem;
- F. A seleção indireta via valor agrônômico pode ser uma alternativa para a identificação de genótipos produtivos, dentro de cada manejo de fungicidas;
- G. A análise dialélica multivariada utilizando ideótipos foi eficaz na identificação dos genitores e cruzamentos mais promissores para determinadas características;
- H. Para produtividade de grãos, em ambos os ambientes de fungicidas, os maiores destaques ocorreram nos genitores V Max RR, USP 14-22.010, USP 14-22.003 e USP 14-22.008; e nos cruzamentos V Max RR x USP 14-22.009, V Max RR x USP 14-22.010 e BMX Potência RR x USP 14-22.003;
- I. O genitor V Max RR proporcionou maiores efeitos aditivos para as características reprodutivas e a linhagem genitora USP 14-22.010 para as adaptativas, nos dois manejos de fungicidas. O cruzamento MSOY 7908 RR x USP 14-22.001 destacou-se para as características adaptativas e reprodutivas no manejo 1 (com controle da ferrugem).

REFERÊNCIAS

- Agrofit, 2017. Consulta de Produtos Formulados [WWW Document]. MAPA. URL http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons (acessado 31.1.17).
- Aguado, A., Santos, B.D.L., Blanco, C., Romero, F., 2008. Study of gene effects for cotton yield and *Verticillium* wilt tolerance in cotton plant (*Gossypium hirsutum* L.). F. Crop. Res. 107, 78–86.
- Almeida, A.M.R., Ferreira, L.P., Yorini, J.T., Silva, J.F.V., Henning, A.A., Godoy, C.V., Costamilan, L.M., Meyer, M.C., 2011. Doenças da Soja, in: Kimati, H., Amorin, L., Rezende, J.A.M., Bergamin Filho, A., Camargo, L.E.A. (Eds.), Manual de Fitopatologia. Agonomica Ceres, 570–588.
- Amaral, G.G., Sedyama, C.S., Filho Sebastião, M., Moreira, M.A., Barros, E.G., Cruz, C.D., 2004. Multivariate analysis of combining ability for soybean resistance to *Cercospora sojina* Hara. Genet. Mol. Biol. 27, 395–399.
- Amorim, F.A., 2011. Efeito do gene CP4 EPSPS na produtividade de óleo em populações de soja Flávia Aparecida Amorim Piracicaba. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, tese de doutorado, 200.
- Ando, K., Grumet, R., Kelly, D.J., 2007. Manipulation of plant architecture to enhance crop disease control. CAB Rev. Perspect. Agric. Vet. Sci. Nutr. Nat. Resour. 2, 1–8.
- Araujo, M.M. de, Vello, N.A., 2010. Characterization of soybean genotypes for Asian soybean rust reaction. Crop Breed. Appl. Biotechnol. 10, 197–203.
- Badu-Apraku, B., Fontem, L.A., Akinwale, R.O., Oyekunle, M., 2011. Biplot analysis of diallel crosses of early maturing tropical yellow maize inbreds in stress and nonstress environments. Crop Sci. 51, 173–188.
- Baker, R.J., 1978. Issues in Diallel Analysis. Crop Sci. 18, 533-536.
- Benin, G., Silva, G.O. da, Pagliosa, E.S., Lemes, C., Signorini, A., Beche, E., Capelin, M.A., 2009. Capacidade de combinação em genótipos de trigo estimada por meio de análise multivariada. Pesqui. Agropecuária Bras. 44, 1145–1151.
- Bernardo, R., 2010. Breeding for Quantitative Traits in Plants, 2^a. ed. Stemma Press, Minnesota. 369.
- Bertan, I., Carvalho, F.I.F. De, Oliveira, A.A.C. De, 2007. Parental Selection Strategies in Plant Breeding Programs. J. Crop Sci. Biotechnol. 10, 211–222.
- Bingham, I.J., Walters, D.R., Foulkes, M.J., Paveley, N.D., 2009. Crop traits and the tolerance of wheat and barley to foliar disease. Ann. Appl. Biol. 154, 159–173.
- Bonato, E.R., Bonato, A.L.V., 1987. A soja no Brasil: história e estatística. EMBRAPA-CNPSO. Documentos. 61.

- Carr, D.E., Murphy, J.F., Eubanks, M.D., 2006. Genetic variation and covariation for resistance and tolerance to Cucumber mosaic virus in *Mimulus guttatus* (Phrymaceae): a test for costs and constraints. *Heredity*. 96, 29–38.
- Céleres, 2016. INFORMATIVO BIOTECNOLOGIA [WWW Document]. URL <http://www.celeres.com.br/2o-levantamento-de-adocao-da-biotecnologia-agricola-no-brasil-safra-201617/> (acessado 10.02.17).
- Chakraborty, N., Curley, J., Frederick, R.D., Hyten, D.L., Nelson, R.L., Hartman, G.L., Diers, B.W., 2009. Mapping and Confirmation of a New Allele at *Rpp1* from Soybean PI 594538A Conferring RB Lesion–Type Resistance to Soybean Rust. *Crop Sci.* 49, 783–790.
- Childs, S.P., King, Z.R., Walker, D.R., Harris, D.K., Pedley, K.F., Buck, J.W., Boerma, H.R., Li, Z., 2017. Discovery of a seventh *Rpp* soybean rust resistance locus in soybean accession PI 605823. *Theor. Appl. Genet.* 131, 27–41.
- Chukwu, S.C., Okporie, E.O., Onyishi, G.C., Ekwu, L.G., Nwogbaga, A.C., Ede, N. V, 2016. Application of diallel analyses in crop improvement. *Agric. Biol. J. North Am.* 7, 95–106.
- Colombari Filho, J.M., Geraldi, I.O., 2014. Sample size for the assessment of soybean inbred populations. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 14, 71–75.
- CONAB: Companhia Nacional de Abastecimento, 2016. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos. *Monit. Agric. Safra 2015/2016* 3, 1–174.
- Conceição, L.D.H.C.S., Tessele, C., Barbosa Neto, J.F., 2009. Diallel analysis and mapping of aluminum tolerance in corn inbred lines. *Maydica* 54, 55–61.
- Cruz, C.D., Regazzi, J.A., Carneiro, P.C.S., 2014. Modelos biométricos aplicado ao melhoramento genético, vol. II, 4º. ed. Editora UFV, Viçosa, MG. 670.
- Cruz, C.D., Regazzi, J.A., Carneiro, P.C.S., 2012. Modelos biométricos aplicados no melhoramento genético, vol. I, 4º. ed, Modelos biométricos aplicados no melhoramento genético, vol. I. Editora UFV, Viçosa, MG. 514.
- Cruz, T.V. da, Peixoto, C.P., MartinsII, M.C., Laranjeira, F.F., Lopes, P.V.L., Ledo, N.S., Silva, C.A. da, 2012. Yield loss caused by rust in soybean cultivars sown in different periods in the Western region of Bahia, Brazil. *Trop. Plant Pathol.* 37, 255–265.
- De Carvalho, C.G.P., Arias, C.A.A., De Toledo, J.F.F., De Oliveira, M.F., Vello, N.A., 2002. Correlações e análise de trilha em linhagens de soja semeadas em diferentes épocas. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 37, 311–320.
- Dhillon, B.S., 1978. Partial Diallel. *Biometrical J.* 20, 279–283.
- Duke, S.O., Powles, S.B., 2008. Mini-review *Glyphosate*: a once-in-a-century herbicide. *Pest Manag. Sci.* 64, 319–325.
- EMBRAPA, 1984. Recomendações de cultivares, época de semeadura, espaçamento e densidade da soja, para o ano agrícola 1984/85, no Paraná. *Comun. Técnico* 6606, 13.

- Falconer, D.S., Mackay, T.F.C., 1996. Introduction to Quantitative Genetics, 4^o. ed. Longman Scientific & Technical, Harlow. 480.
- Farias, J.R.B., Nepomuceno, A.L., Neumaier, N., 2007. Ecofisiologia da Soja. Circ. Técnico, Embrapa, Londrina, 48, 9.
- Fehr, W.R., Caviness, C.E., 1977. Stages of Soybean Development. Special report, Iowa State University Cooperative, Iowa, 11.
- Feng, L., Burton, J.W., Carter, T.E., Pantalone, V.R., 2004. Recurrent Half-Sib Selection with Testcross Evaluation for Increased Oil Content in Soybean. Crop Sci. 44, 64–69.
- Ferreira Júnior, J.A., Unêda-Trevisoli, S.H., Espíndola, S.M.C.G., Vianna, V.F., Mauro, A.O. Di, 2015. Genetic diversity in advanced soybean strains derived from biparental, four-way and eight-way crosses. Rev. Ciência Agronômica 46, 339–351.
- Freire, M., Oliveira, L., 2008. Evolutionary history of *Phakopsora pachyrhizi* (the Asian soybean rust) in Brazil based on nucleotide sequences of the internal transcribed spacer region of the nuclear ribosomal DNA. Genet. Mol. Biol. 31, 920–931.
- Fulker, D.W., Wilcock, J., Broadhurst, P.L., 1972. Studies in genotype-environment interaction. I. Methodology and preliminary multivariate analysis of a diallel cross of eight strains of rat. Behav. Genet. 2, 261–287.
- Gardner, C., Eberhart, S., 1966. Analysis and Interpretation of the Variety Cross Diallel and Related Populations. Biometrics 22, 439–452.
- Gavioli, E.A., Perecin, D., Mauro, O.A., 2008. Analisis Combining Soybean. Pdf. Crop Breed. Appl. Biotechnol. 8 8, 1–7.
- Gehlenborg, N., O'Donoghue, S.I., Baliga, N.S., Goesmann, A., Hibbs, M.A., Kitano, H., Kohlbacher, O., Neuweber, H., Schneider, R., Tenenbaum, D., Gavin, A.C., 2010, Visualization of omics data for systems biology. Nature Meth. Supp. 7, 56-68.
- Ghodrati, G., 2013. Study of genetic variation and broad sense heritability for some qualitative and quantitative traits in soybean (*Glycine max* L.) genotypes. Curr. Opin. Agric. 2, 31–35.
- Gianessi, L.P., 2005. Economic and herbicide use impacts of glyphosate-resistant crops. Pest Manag. Sci. 61, 241–245.
- Gill, N., Findley, S., Walling, J.G., Hans, C., Ma, J., Doyle, J., Stacey, G., Jackson, S.A., 2009. Molecular and chromosomal evidence for allopolyploidy in soybean. Plant Physiol. 151, 1167–74.
- Godoy, C.V., Seixas, C.D., Santos, S.M., Franscimar, C.M., Costamilan, M. c. , 2016. Asian soybean rust in Brazil: Past, present, and future. Pesqui. Agropecu. Bras. 51, 407–421.

- Godoy, C.V., Almeida, A.M.R., Costamilan, L.M., Meyer, M.C., Dias, W.P., Seixas, C.D.S., Soares, R.M., Henning, A.A., Yorinori, J.T., Ferreira, L.P., Silva, J.F.V., 2016. Doenças da Soja, in: Amorim, L., Rezende, J.A.M., Filho, A.B., Camargo, L.E.A. (Eds.), Manual de Fitopatologia Vol.2. Agronômica Ceres, Piracicaba, 657–676.
- Godoy, C. V., Bueno, A.F., Gazziero, D.L.P., 2015. Brazilian soybean pest management and threats to its sustainability. *Outlooks Pest Manag.* 26, 113–117.
- Godoy, C. V., Koga, L.J., Canteri, M.G., 2006. Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. *Fitopatol. Bras.* 31, 63–68.
- Godoy, C. V., Utiamada, C.M., Meyer, M.C., Campos, D.H., Forcelini, C.A., Pimenta, C.B., Borges, E.P., Andrade, E.R., Siqueri, F. V., 2016. Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2015/16: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. *Circ. Técnico, Embrapa, Londrina*, 119, 6.
- Goellner, K., Loehrer, M., Langenbach, C., Conrath, U., Koch, E., Schaffrath, U., 2010. *Phakopsora pachyrhizi*, the causal agent of Asian soybean rust. *Mol. Plant Pathol.* 11, 169–177.
- Gonçalves, L.S.A., Silvério, P.F., Amarel, A.T.A., Scapim, C.A., Rodrigues, R., Marinho, D.C., Pagliosa, E.S., 2014. Estimating combining ability in popcorn lines using multivariate analysis. *Chil. J. Agric. Res.* 74, 10–15.
- Griffing, B., 1956. Concept of General and Specific Combining Ability in Relation to Diallel Crossing Systems. *Aust. J. Biol. Sci.* 9, 463–493.
- GRIN, 2017. U.S. National Plant Germplasm System [WWW Document]. URL <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/search.aspx?> (acessado 31.1.18).
- Harris, D.K., Abdel-Haleem, H., Buck, J.W., Phillips, D. V., Li, Z., Boerma, H.R., 2015. Soybean quantitative trait loci conditioning soybean rust-induced canopy damage. *Crop Sci.* 55, 2589–2597.
- Harris, R.J., 2001. Harris - A Primer of Multivariate Statistics, 3^o. ed. Lawrence Erlbaum Associates, London. 626.
- Hartl, D.L., Clark, A.G., 2010. Principles of Population Genetics, 4^o. ed. Sinauer Associates. 660p.
- Hartman, G.L., Hill, C.B., Twizeyimana, M., Miles, M.R., Bandyopadhyay, R., 2011. Interaction of soybean and *Phakopsora pachyrhizi*, the cause of soybean rust. *CAB Rev. Perspect. Agric. Vet. Sci. Nutr. Nat. Resour.* 6, 13.
- Hartman, G.L., Miles, M.R., Frederick, R.D., 2005. Symposium Breeding for Resistance to Soybean Rust. *Plant Dis.* 89, 664–666.
- Hayman, B.I., 1954. The Theory and Analysis of Diallel Crosses. *Genetics* 39, 789–809.

- Hiromoto, D.M., Vello, N.A., 1986. The genetic base of Brazilian soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) cultivars. *Brazil.J.Gen.* 9, 295–306.
- Hyten, D.L., Song, Q., Zhu, Y., Choi, I.-Y., Nelson, R.L., Costa, J.M., Specht, J.E., Shoemaker, R.C., Cregan, P.B., 2006. Impacts of genetic bottlenecks on soybean genome diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 16666–16671.
- Jafaria, A., Paknejada, F., AL-Ahmadib, Jami, M., 2009. Evaluation of selection indices for drought tolerance of corn (*Zea mays* L.) hybrids. *Int. J. Plant Prod.* 3, 50–54.
- Jarvie, J.A., Shanahan, P.E., 2009. Assessing tolerance to soybean rust in selected genotypes. *F. Crop. Res.* 114, 419–425.
- Jin, J., Liu, X., Wang, G., Mi, L., Shen, Z., Chen, X., Herbert, S.J., 2010. Agronomic and physiological contributions to the yield improvement of soybean cultivars released from 1950 to 2006 in Northeast China. *F. Crop. Res.* 115, 116–123.
- Johnson, K.B., 1987. Defoliation, Disease, and Growth: A Reply. *Phytopathology* 77, 1495–1497.
- Jung, M.S., Vieira, E.A., Da Silva, G.O., Brancker, A., Nodari, R.O., 2007. Capacidade de combinação por meio de análise multivariada para caracteres fenotípicos em maracujazeiro-doce. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 42, 689–694.
- Kawashima, C.G., Guimarães, G.A., Nogueira, S.R., MacLean, D., Cook, D.R., Steuernagel, B., Baek, J., Bouyioukos, C., Melo, B. do V.A., Tristão, G., de Oliveira, J.C., Rauscher, G., Mittal, S., Panichelli, L., Bacot, K., Johnson, E., Iyer, G., Tabor, G., Wulff, B.B.H., Ward, E., Rairdan, G.J., Broglie, K.E., Wu, G., van Esse, H.P., Jones, J.D.G., Brommonschenkel, S.H., 2016. A pigeonpea gene confers resistance to Asian soybean rust in soybean. *Nat. Biotechnol.* 34, 661–665.
- Kawuki, R.S., Tukamuhabwa, P., Adipala, E., 2004. Soybean rust severity, rate of rust development, and tolerance as influenced by maturity period and season. *Crop Prot.* 23, 447–455.
- Koga, L.J., Canteri, M.G., Calvo, É.S., Unfried, J.R., Garcia, A., Harada, A., Kiihl, R.A.D.S., 2008. Análise multivariada dos componentes da resistência à ferrugem-asiática em genótipos de soja. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 43, 1277–1286.
- Kover, P.X., Schaal, B. a, 2002. Genetic variation for disease resistance and tolerance among *Arabidopsis thaliana* accessions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99, 11270–11274.
- Kumudini, S., Godoy, C. V., Board, J.E., Omielan, J., Tollenaar, M., 2008. Mechanisms involved in soybean rust-induced yield reduction. *Crop Sci.* 48, 2334–2342.
- Ledo, C.A. da S., Ferreira, D.F., Ramalho, M.A.P., 2003. Análise de variância multivariada para os cruzamentos dialélicos. *Ciência e Agrotecnologia* 27, 1214–1221.
- Lenarcic, A.B., Svenson, K.L., Churchill, G.A., Valdar, W., 2012. General Bayesian approach to analyzing diallel crosses of inbred strains. *Genetics* 190, 413–435.

- Loehrer, M., Vogel, A., Huettel, B., Reinhardt, R., Benes, V., Duplessis, S., Usadel, B., Schaffrath, U., 2014. On the current status of *Phakopsora pachyrhizi* genome sequencing. *Front. Plant Sci.* 5, 377.
- Maia, M.C.C., Vello, N.A., De Rocha, M.M., Fonseca, N.S.D.A., Lavorante, O.J., Pinheiro, J.B., Carlos Tadeu Santos Dias, D.O.S., De Assis, G.M.L., 2009. Seleção de linhagens experimentais de soja para características agronômicas e tolerância a insetos. *Bragantia* 68, 85–97.
- Maphosa, M., Talwana, H., Gibson, P., Tukamuhabwa, P., 2012. Combining ability for resistance to soybean rust in F 2 and F 3 soybean populations. *F. Crop. Res.* 130, 1–7.
- Marconato, S.M.B., Pereira, E.M., Silva, F.M., Bizari, E.H., Pinheiro, J.B., Mauro, A.O., Unêda-Trevisoli, S.H., 2016. Genetic divergence in a soybean (*Glycine max*) diversity panel based on agro-morphological traits. *Genet. Mol. Res.* 15, 1–10.
- Mebrahtu, T., Devine, T.E., 2008. Combining ability analysis for selected green pod yield components of vegetable soybean genotypes (*Glycine max*). *New Zeal. J. Crop Hort. Sci.* 36, 97–105.
- Melo, C.L.P. de, Roese, A.D., Goulart, A.C.P., Melo, C.L.P. de, Roese, A.D., Goulart, A.C.P., 2015. Tolerância de genótipos de soja à ferrugem-asiática. *Ciência Rural* 45, 1353–1360.
- Moura, M.M., Carneiro, P.C.S., Carneiro, J.E. de S., Cruz, C.D., 2013. Potencial de caracteres na avaliação da arquitetura de plantas de feijão. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 48, 417–425.
- Nascimento, I.R., Maluf, W.R., Gonçalves, L.D., Faria, M.V., Resende, J.T.V., Nogueira, D.W., 2010. Capacidade combinatória de linhagens de pimentão a partir de análise dialélica multivariada. *Acta Sci. - Agron.* 32, 235–240.
- Nazato, F.M., 2014. Análise da tolerância à ferrugem asiática em dialelo parcial com genitores transgênicos e convencionais de soja. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, dissertação de mestrado. 136.
- Newton, A.C., 2016. Exploitation of Diversity within Crops—the Key to Disease Tolerance? *Front. Plant Sci.* 7, 1–12.
- Ney, B., Bancal, M.O., Bancal, P., Bingham, I.J., Foulkes, J., Gouache, D., Paveley, N., Smith, J., 2013. Crop architecture and crop tolerance to fungal diseases and insect herbivory. Mechanisms to limit crop losses. *Eur. J. Plant Pathol.* 135, 561–580.
- Nogueira, A.P.O., Hamawaki, O.T., Sousa, L.B. De, 2015. Correlations between traits in soybean (*Glycine max* L.) naturally infected with Asian rust (*Phakopsora pachyrhizi*) 14, 17718–17729.
- Oliveira, M.M., Sousa, L.B., Reis, M.C., Junior, E.G.S., Cardoso, D.B.O., 2017. Evaluation of genetic diversity among soybean (*Glycine max*) genotypes using univariate and multivariate analysis. *Genet. Mol. Res.* 16, 1–10.

- Oliveira, I.J. De, Vello, N.A., Melo, P. De, Vieira, J., Wyminersky, P.T., 2014. Diallel Among Soybean Genotypes with High Oil Content and Resistance to Sudden Death Syndrome. *Brazilian Arch. Biol. Technol.* 57, 178–186.
- Oloka, H.K., Tukamuhabwa, P., Sengooba, T., Adipala, E., Kabayi, P., 2009. Potential for soybean rust tolerance among elite soybean lines in Uganda. *Crop Prot.* 28, 1076–1080.
- Ono, Y., Buriticá, P., Hennen, J.F., 1992. Delimitation of *Phakopsora*, *Physopella* and *Cerotelium* and their species on Leguminosae. *Mycol. Res.* 96, 825–850.
- Pangga, I.B., Hanan, J., Chakraborty, S., 2013. Climate change impacts on plant canopy architecture: Implications for pest and pathogen management. *Eur. J. Plant Pathol.* 135, 595–610.
- Paul, C., Hartman, G.L., Marois, J.J., Wright, D.L., Walker, D.R., 2013. First Report of *Phakopsora pachyrhizi* Adapting to Soybean Genotypes with *Rpp* 1 or *Rpp*6 Rust Resistance Genes in Field Plots in the United States. *Plant Dis.* 97, 1379–1379.
- Pereira, F.A.C., Vello, N.A., Rocha, G.A.F., Didoné, C.A., 2018. Rust effect estimation in soybean crosses for tolerance to Asian rust. *Ciência Rural*, 48, 1-9.
- Pimentel-Gomes, F., 2009. Curso de estatística experimental, 15^a. ed. FEALQ, Piracicaba. 478.
- Posadas, L.G., Eskridge, K.M., Graef, G.L., 2014. Elite performance for grain yield from unadapted exotic soybean germplasm in three cycles of a recurrent selection experiment. *Crop Sci.* 54, 2536–2546.
- Rezende, B.A., Abreu, Â. de F.B., Ramalho, M.A.P., de Souza, E.A., 2014. Severity evaluation methods in common bean recurrent selection programme for resistance to angular leaf spot. *J. Phytopathol.* 162, 643–649.
- Ribeiro, A.S., de Toledo, J.F.F., Arias, C.A.A., Godoy, C.V., Soares, R.M., Moreira, J.U.V., Pierozzi, P.H.B., Vidigal, M.C.G., de Oliveira, M.F., 2008. Genetic control of soybean (*Glycine max*) yield in the absence and presence of the Asian rust fungus (*Phakopsora pachyrhizi*). *Genet. Mol. Biol.* 31, 98–105.
- Ritchie, S., Hanway, J., Thompson, H., 1985. How a soybean plant develops. Iowa State Univ. Sci. Technol. Coop. Ext. Serv. 20.
- Roy, B. a, Kirchner, J.W., Roy, A.B. a, Kirchner, J.W., Url, S., Roy, B. a, 2000. Evolutionary dynamics of pathogen resistance and tolerance. *Evolution.* 54, 51–63.
- Schafer, J.F., 1971. Tolerance to Plant Disease. *Annu. Rev. Phytopathol.* 9, 235–252.

- Schmutz, J., Cannon, S.B., Schlueter, J., Ma, J., Mitros, T., Nelson, W., Hyten, D.L., Song, Q., Thelen, J.J., Cheng, J., Xu, D., Hellsten, U., May, G.D., Yu, Y., Sakurai, T., Umezawa, T., Bhattacharyya, M.K., Sandhu, D., Valliyodan, B., Lindquist, E., Peto, M., Grant, D., Shu, S., Goodstein, D., Barry, K., Futrell-Griggs, M., Abernathy, B., Du, J., Tian, Z., Zhu, L., Gill, N., Joshi, T., Libault, M., Sethuraman, A., Zhang, X.-C., Shinozaki, K., Nguyen, H.T., Wing, R.A., Cregan, P., Specht, J., Grimwood, J., Rokhsar, D., Stacey, G., Shoemaker, R.C., Jackson, S.A., 2010. Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature* 463, 178–83.
- Scott, a J., Knott, M., 1974. A Cluster Analysis Method for Grouping Means in the Analysis of Variance. *Biometrics* 30, 507–512.
- Shapiro, A.S.S., Wilk, M.B., 1965. An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). *Biometrika* 52, 591–611.
- Sio-Se Mardeh, A., Ahmadi, A., Poustini, K., Mohammadi, V., 2006. Evaluation of drought resistance indices under various environmental conditions. *F. Crop. Res.* 98, 222–229.
- Slaminko, T.L., Miles, M.R., Frederick, R.D., Bonde, M.R., Hartman, G.L., 2008. New legume hosts of *Phakopsora pachyrhizi* based on greenhouse evaluations. *Plant Dis.* 92, 767–771.
- Spehar, C.R., 1999. Diallel analysis for grain yield and mineral absorption rate of soybeans grown in acid Brazilian Savannah soil. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 34, 1003–1009.
- Spehar, C.R., 1995. Impact of strategic genes in soybean on agricultural development in the Brazilian tropical savannahs. *F. Crop. Res.* 41, 141–146.
- Steinmann, H.H., Dickeduisberg, M., Theuvsen, L., 2012. Uses and benefits of glyphosate in German arable farming. *Crop Prot.* 42, 164–169.
- Stupar, R.M., 2010. Into the wild: The soybean genome meets its undomesticated relative. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 21947–21948.
- Suh, S.K., Cho, Y., Park, H.K., Scott, R.A., 2000. Gene Action and Heritability of leaf and reproductive characteristics in soybean. *Breed. Sci.* 50, 45–51.
- Teodoro, P.E., Rodrigues, E. V, Peixoto, L.A., Silva, L.A., Laviola, B.G., 2017. Multivariate diallel analysis allows multiple gains in segregating populations for agronomic traits in *Jatropha*. *Genet. Mol. Res.* 16, 1–8.
- Tivoli, B., Calonnec, A., Richard, B., Ney, B., Andrivon, D., 2013. Current knowledge on plant/canopy architectural traits that reduce the expression and development of epidemics. *Eur. J. Plant Pathol.* 135, 471–478.
- TMG, 2017. Tecnologia Inox® da TMG, tranquilidade e maior segurança no controle da Ferrugem asiática. [WWW Document]. URL <http://www.tmg.agr.br/tecnologia-inox> (acessado 31.1.17).
- Toledo, J.F.F. De, Almeida, L.A. De, Kiihl, R.A.D.S., Menosso, O.G., 1990. Ganho genético em soja no estado do Paraná, via melhoramento. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 25, 89–94.

- Torres, E.A., Geraldi, I.O., 2007. Partial diallel analysis of agronomic characters in rice (*Oryza sativa* L.). *Genet. Mol. Biol.* 30, 605–613.
- USDA, 2017. World Agricultural Production. *Circ. Ser.* 6–15.
- Vale, F.X., Parlevliet, J.E., Zambolim, L., 2001. Concepts in plant disease resistance. *Fitopatol. Bras.* 26, 577–589. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582001000300001>
- Vello, N.A., Nazato, F.M., 2017. Recurrent selection, in: Lopes da Silva, F., Borém, A., Sedyama, T. (Eds.), *Soybean Breeding*. Springer, Gewerbestrasse, 171-191.
- Vencovsky, R., Barriga, P., 1992. Genética Biométrica no Fitomelhoramento. *Revista Brasileira de Genética, Ribeirão Preto.* 469.
- Walker, D.R., Harris, D.K., King, Z.R., Li, Z., Phillips, D. V., Buck, J.W., Nelson, R.L., Boerma, H.R., 2014. Soybean germplasm accession seedling reactions to soybean rust isolates from Georgia. *Crop Sci.* 54, 1433–1447.
- Walling, J.G., Shoemaker, R., Young, N., Mudge, J., Jackson, S., 2006. Chromosome-level homeology in paleopolyploid soybean (*Glycine max*) revealed through integration of genetic and chromosome maps. *Genetics* 172, 1893–1900.
- Wang, J., Chu, S., Zhang, H., Zhu, Y., Cheng, H., Yu, D., 2016. Development and application of a novel genome-wide SNP array reveals domestication history in soybean. *Sci. Rep.* 6, 207-228.
- Wang, K.J., Li, X.H., Liu, Y., 2012. Fine-scale phylogenetic structure and major events in the history of the current wild soybean (*glycine soja*) and taxonomic assignment of semi-wild type (*Glycine gracilis* Skvortz.) within the chinese subgenus *soja*. *J. Hered.* 103, 13–27.
- Windels, P., Taverniers, I., Depicker, A., Van Bockstaele, E., De Loose, M., 2001. Characterisation of the Roundup Ready soybean insert. *Eur. Food Res. Technol.* 213, 107–112.
- Wrather, J. a., Anderson, T.R., Arsyad, D.M., Gai, J., Ploper, L.D., Porta-Puglia, a., Ram, H.H., Yorinori, J.T., 1997. Soybean Disease Loss Estimates for the Top 10 Soybean Producing Countries in 1994. *Plant Dis.* 81, 107–110.
- Wysmierski, P.T., Vello, N.A., 2013. The genetic base of Brazilian soybean cultivars: evolution over time and breeding implications. *Genet. Mol. Biol.* 36, 547–555.
- Xu, D.H., Abe, J., Gai, J.Y., Shimamoto, Y., 2002. Diversity of chloroplast DNA SSRs in wild and cultivated soybeans: Evidence for multiple origins of cultivated soybean. *Theor. Appl. Genet.* 105, 645–653.
- Zhang, H., Hao, D., Siteo, H.M., Yin, Z., Hu, Z., Zhang, G., Yu, D., 2015. Genetic dissection of the relationship between plant architecture and yield component traits in soybean (*Glycine max*) by association analysis across multiple environments. *Plant Breed.* 134, 564–572.

Zhu, J., Weir, B.S., 1996. Mixed model approaches for diallel analysis based on a bio-model. *Genet. Res.* 68, 233–240.