



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

KARLA BIANCA DE ALMEIDA LOPES

**VARIAÇÃO GENÉTICA INTRACULTIVAR EM SOJA  
SELECIONADA EM ULTRABAIXA DENSIDADE DE  
PLANTAS PELO MODELO *HONEYCOMB SELECTION*  
*DESIGNS***

---

Londrina  
2018

KARLA BIANCA DE ALMEIDA LOPES

**VARIAÇÃO GENÉTICA INTRACULTIVAR EM SOJA  
SELECIONADA EM ULTRABAIXA DENSIDADE DE  
PLANTAS PELO MODELO *HONEYCOMB SELECTION*  
*DESIGNS***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Doutor em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Claudemir Zucareli.  
Co-Orientador: Dr. Antônio Eduardo Pípolo.

Londrina  
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Lopes, Karla Bianca de Almeida.

Varição genética intracultivar em soja selecionada em ultrabaixa densidade de plantas pelo modelo *Honeycomb Selection Designs* / Karla Bianca de Almeida Lopes. - Londrina, 2018.  
148 f. : il.

Orientador: Claudemir Zucareli.

Coorientador: Antônio Eduardo Pípolo.

Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2018.

Inclui bibliografia.

1. Melhoramento de plantas - Tese. 2. Eficiência de seleção - Tese. 3. Ausência de competição - Tese. 4. Qualidade de bebida - Tese. I. Zucareli, Claudemir. II. Pípolo, Antônio Eduardo. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

KARLA BIANCA DE ALMEIDA LOPES

**VARIAÇÃO GENÉTICA INTRACULTIVAR EM SOJA SELECIONADA  
EM ULTRABAIXA DENSIDADE DE PLANTAS PELO MODELO  
*HONEYCOMB SELECTION DESIGNS***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Doutor em Agronomia.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Claudemir Zucareli  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Coorientador: Dr. Antônio Eduardo Pípolo  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária -  
EMBRAPA

---

Dr. Nelson da Silva Fonseca Júnior  
Instituto Agrônômico do Paraná - IAPAR

---

Dr<sup>a</sup>. Vera de Toledo Benassi  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária –  
EMBRAPA

---

Dr. José Salvador Simoneti Foloni  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária –  
EMBRAPA

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Paula Barion Alves Nunes  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 29 de novembro de 2018.

À Deus, meu refúgio e minha fortaleza, e à  
minha família, que sempre me apoiou nos  
momentos mais difíceis, dedico.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente à Deus, por Sua infinita graça e misericórdia, e por sempre me fortalecer nos momentos mais difíceis.

À Universidade Estadual de Londrina e ao Programa de Pós Graduação da Universidade Estadual de Londrina pela oportunidade concedida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e à Fundação Araucária, pela bolsa de estudos concedida.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Soja, por fornecer todo material, pessoal e as instalações necessárias para a realização dos experimentos.

Ao professor Claudemir Zucareli por toda orientação, conselhos, ensinamentos, paciência, amizade e por toda ajuda durante o doutorado.

Ao Dr. Antônio Eduardo Pípolo, por todo o conhecimento transmitido, conselhos, atenção e também pela amizade. Foram apenas três anos de convivência, porém tudo o que aprendi, desde técnicas, novas metodologias, até a forma de se relacionar com as pessoas, levarei para o resto de minha vida.

Ao pessoal do melhoramento da Embrapa Soja, em especial Márcio, João da Mata e Vanderlei, pela amizade e por toda ajuda durante a condução dos experimentos. Agradeço também à Vera de Toledo Benassi, pela ajuda e paciência para a realização dos testes sensoriais, incluindo a parte burocrática.

Aos professores do departamento de Agronomia pelos ensinamentos e à secretária da pós graduação Weda Aparecida Westin por todo auxílio.

À minha ex-orientadora e amiga Valéria Carpentieri Pipolo por todos ensinamentos, conselhos, lições, direcionamentos e, principalmente, pela amizade. Se não desisti do melhoramento genético e aceitei novos desafios foi por sua grande influência em minha vida. Por isso, deixo aqui o meu sincero obrigado!

Aos meus amigos da pós graduação Flávia Werner, Júlia Abati, Ronan Colombo, Tatiana Ueda, Tatiane Lobak e Jaqueline Casado, assim como às minhas amigas Izadora Rodrigues e Camila Iossaqui, e aos muitos amigos da Igreja Sagradas Missões de Jaguapitã por sempre me apoiarem e acreditarem em mim.

Aos meus pais, João Carlos Lopes e Albacela Lopes por todo apoio, aos meu tios, tias e primos, e também à minha irmã Geane Lopes por sempre estar ao meu lado seja como ouvinte, estagiária, socorrista, mas, principalmente, como minha melhor amiga.

*"Pode-se encontrar a felicidade mesmo nas horas mais sombrias, se a pessoa se lembrar de acender a luz."*

*A.P.W.B. Dumbledore*

LOPES, Karla Bianca de Almeida. **Varição genética intracultivar em soja selecionada em ultrabaixa densidade de plantas pelo modelo *Honeycomb Selection Designs***. 2018. 148f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

## RESUMO

A exploração da variação genética intracultivar, embora importante, não vem sendo utilizada devido à suposição de que as cultivares elite são altamente homogêneas. Desta forma, o modelo de seleção em ultrabaixa densidade, denominado *Honeycomb Selection Designs* (HSD), apresenta-se como um método alternativo que visa a exploração desta variação. Neste contexto, o objetivo do trabalho foi explorar a variação genética intracultivar de quatro cultivares comerciais de soja utilizando o Modelo de Seleção HSD. Para isto, plantas individuais das cultivares de soja BRS 284, BRS 1001 IPRO, BRS 257 e UEL 175, foram cultivadas em ultrabaixa densidade (1,0 planta m<sup>-2</sup>), em dois locais (Londrina/PR e Ponta Grossa/PR), durante duas safras. Na safra 2014/15, 400 plantas foram cultivadas em condições de ultrabaixa densidade, utilizando o modelo HSD sem repetição. De acordo com o rendimento de planta individual, porcentagem sobre as plantas vizinhas e Índice de Produtividade de Planta ( $PYI = (x/\bar{x}_r)^2$ ), 20 plantas de cada cultivar, incluindo a cultivar original, foram selecionadas para avaliação na safra 2015/16 utilizando o modelo HSD R-21 com repetição. A partir dos valores de Índice de Produtividade de Planta ( $PYI$ ), Índice de Estabilidade ( $SI = (\bar{x}_g/s)^2$ ), e valores da equação de prognóstico de planta ( $pPE = PYI.SI$ ), foram selecionadas as melhores linhagens de cada cultivar e avaliadas sob competição (320.000 plantas ha<sup>-1</sup>) na safra 2016/17. Linhagens selecionadas dentro das cultivares de soja convencionais (BRS 284, BRS 257 e UEL 175), que apresentaram bons desempenhos na safra 2015/16 e 2016/17, também foram avaliadas quanto a aceitabilidade sensorial de extratos aquosos preparados com as sementes. A seleção de plantas individuais em ultrabaixa densidade (1.0 planta m<sup>-2</sup>) foi efetiva em identificar variação genética significativa para rendimento de grãos e também para outras características agronômicas desejáveis, dentro de cultivares de soja consideradas homogêneas, em curto espaço de tempo, dois anos de seleção. Destaca-se a linhagem 284-32-17-3, que em 10 locais de avaliação na Macrorregião sojícola 1, apresentou rendimento de grãos 3,8% superior ao da cultivar BRS 284. A linhagem também foi destaque na Macrorregião sojícola 3, onde em 9 locais de avaliação, apresentou rendimento de grãos 5,7% superior ao da BRS 284. As linhagens 284-85-19-4, 284-9-20-5 e 1001-249-8-3 apresentaram bom desempenho, com rendimento de grãos superior ao da cultivar original variando de 0,7 a 3,0%. A linhagem 175-122-12-3, apresentou rendimento médio 5,6% superior à cultivar padrão, quando avaliada sob competição, em seis diferentes ambientes. Foi observada variação genética intracultivar significativa entre as linhagens selecionadas dentro da cultivar BRS 257 para todas as características exceto rendimento de grãos e acamamento. A cultivar BRS 257, embora não tenha apresentado variabilidade significativa quanto à rendimento de grãos, apresentou para a qualidade sensorial dos extratos aquosos. O extrato preparado com a linhagem 284-9-20-5 foi mais preferido que os extratos preparados com grãos de linhagens de soja desprovidas de lipoxigenases BRS 257 e 175-122-12-3. Desta forma, pode-se afirmar que a seleção de plantas individuais em ultra baixa densidade dentro de cultivares elite de soja, foi efetiva em identificar linhagens mais produtivas e pode ser empregada também para melhorar outras características agronômicas e de qualidade de bebida.

**Palavras-chave:** *Glycine max* (L.) Merrill. Eficiência de seleção. Ausência de competição. Ganho genético. Produtividade. Qualidade de bebida.

LOPES, Karla Bianca de Almeida. **Intracultivar genetic variation in soybean selected by ultra-low density of plants using Honeycomb Selection Designs**. 2018. 148p. Thesis (Doctoral degree in Agronomy) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

## ABSTRACT

The exploration of intracultivar genetic variation, although important, has not been used due to the assumption that elite cultivars are highly homogeneous. In this way, the ultra-low-density selection model, called Honeycomb Selection Designs (HSD), is presented as an alternative method to explore this variation. In this context, this work aimed to explore the intracultivar genetic variation of four commercial soybean cultivars using the HSD Selection Model. For this, individual plants of the BRS 284, BRS 1001 IPRO, BRS 257 and UEL 175 soybean cultivars were grown under ultra-low density (1.0 plant m<sup>-2</sup>) at two environments (Londrina/PR and Ponta Grossa/PR), during two crop seasons. In 2014/15, 400 plants were grown under ultra-low-density conditions, using the HSD model without repetition. According to the individual plant yield, percentage on neighboring plants and Plant Yield Index ( $PYI = (x/\bar{x}_r)^2$ ), 20 plants of each cultivar, including the standard cultivar, was selected to evaluation in 2015/16 using the HSD model R-21 with repetition. From the values of the Plant Yield Index ( $PYI$ ), Stability Index ( $SI = (\bar{x}_g/s)^2$ ), and values of the prognostic equation ( $pPE = PYI.SI$ ), the best lines from each cultivar were selected and evaluated under competition (320,000 plants ha<sup>-1</sup>) in 2016/17. Lines selected within the non-transgenic cultivars (BRS 284, BRS 257 and UEL 175), which showed good performance in 2015/16 and 2016/17, were also evaluated for the acceptability of aqueous extracts prepared with the seeds. The selection of individual plants at ultra-low density (1.0 m<sup>-2</sup> plant) was effective in identifying significant genetic variation for grain yield and also for other desirable agronomic characteristics, within soybean cultivars considered homogeneous, in a short period of time, two-year selection. We highlight the line 284-32-17-3, which at 10 evaluation sites in the Soybean Macro-region 1, presented grain yield 3.8% higher than the cultivar BRS 284. The line was also highlighted in the Soybean Macro-region 3, where at 9 evaluation sites, presented grain yield 5.7% higher than BRS 284. Lines 284-85-19-4, 284-9-20-5 and 1001-249-8-3 presented good performance, with grain yield higher than the original cultivar, varying from 0.7 to 3.0%. The line 175-122-12-3, presented a mean yield 5.6% higher than the standard cultivar when evaluated under competition in six different environments. Significant intracultivar genetic variation was observed among the lines selected within cultivar BRS 257 for all characteristics except grain yield and lodging. The cultivar BRS 257, although it did not present significant variability regarding grain yield, presented for the quality of the aqueous extracts. The extract prepared with line 284-9-20-5 was more preferred than the extracts prepared with soybean lacking lipoxygenases BRS 257 and 175-122-12-3. Thus, it can be stated that the selection of individual plants in ultra-low density within elite soybean cultivars was effective in identifying more productive lines and could also be used to improve other agronomic and beverage quality characteristics.

**Keywords:** *Glycine max* (L.) Merrill. Selection efficiency. Null competition. Genetic gain. Grain yield. Drink quality.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 2.1</b> - Desenho de Engelbert Kaempfer de uma planta de soja.....	18
<b>Figura 2.2</b> - Produção agrícola de soja na safra 2017/18.....	22
<b>Figura 2.3</b> - Modelo de seleção em ultrabaixa densidade <i>Honeycomb Selection Designs</i> D-31.....	41
<b>Figura 2.4</b> - Modelo de seleção em ultrabaixa densidade <i>Honeycomb Selection Designs</i> R-31, avaliando 31 entradas. A “grade móvel” ( <i>moving grid</i> ), em vermelho, e a “unidade móvel de repetição” ( <i>moving replicate</i> ), em cinza, são ilustradas para as plantas da Linhagem 4.....	43
<b>Figura 2.5</b> - Modelo de seleção em ultrabaixa densidade <i>Honeycomb Selection Designs</i> na avaliação de plantas individuais de três cultivares elite de soja (“Benning”, “Cook” e “Haskell”) utilizando espaçamento de 0,9 m entre plantas.....	45
<b>Figura 3.1</b> - Temperaturas máxima, mínima, média e precipitação pluviométrica semanais, durante o período de condução dos experimentos de seleção nos agrícolas de 2014/2015 e 2015/2016 em Londrina/PR e em Ponta Grossa/PR.....	67
<b>Figura 3.2</b> - Modelo de seleção em ultrabaixa densidade <i>Honeycomb Selection Designs</i> R-21 com 21 entradas.....	70
<b>Figura 3.3</b> - Macrorregiões Sojícolas - Terceira Aproximação. Embrapa Soja, Londrina - PR. 2011.....	72
<b>Figura 4.1</b> - Temperaturas máxima, mínima, média e precipitação pluviométrica semanais, durante o período de condução dos experimentos de seleção nos agrícolas de 2014/2015 e 2015/2016 em Londrina/PR e em Ponta Grossa/PR.....	99
<b>Figura 4.2</b> - Modelo de seleção em ultrabaixa densidade <i>Honeycomb Selection Designs</i> R-21 com 21 entradas.....	102
<b>Figura 4.3</b> - Macrorregião Sojícola 2 - Terceira Aproximação. Embrapa Soja, Londrina - PR. 2011.....	103
<b>Figura 5.1</b> - Ficha de avaliação para o teste de comparação múltipla, onde as amostras oferecidas foram comparadas à amostra de referência (R).....	128
<b>Figura 5.2</b> - Ficha de avaliação para o teste de aceitação utilizando a escala hedônica de nove pontos.....	129

- Figura 5.3** - Valores médios das notas atribuídas pelos julgadores quanto à intensidade de preferência de extratos de soja preparados a partir de grãos de linhagens selecionadas em ultrabaixa densidade pelo modelo *Honeycomb Selection Designs*, dentro das cultivares BRS 257, UEL 175 e BRS 284, durante dois anos..... 130
- Figura 5.4** - Porcentagem de julgadores que atribuíram notas entre 7 e 9 no teste de aceitação de amostras de extrato de soja preparado com a cultivar BRS 257 e com as linhagens 175-122-12-3 e 284-9-20-5..... 131

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 3.1** - Altitude e características químicas do solo, na camada de 0 a 20 cm, nas áreas experimentais de Londrina/PR e Ponta Grossa/PR..... 67
- Tabela 3.2** - Rendimento de planta individual (g), Porcentagem sobre o rendimento médio de grãos de seis plantas vizinhas (% Viz) e Índice de Rendimento de Planta Individual (*PYI*) das 30 melhores plantas selecionadas dentro das cultivares BRS 284 e BRS 1001IPRO, em ultrabaixa densidade através do modelo *Honeycomb Selection Designs* sem repetição, em Londrina (LDA) e em Ponta Grossa (PGA), safra 2014/2015..... 84
- Tabela 3.3** - Rendimento de planta individual (g), Índice de produtividade de planta (*PYI*) Índice de estabilidade (*SI*) e Equação de Prognóstico de Planta (*pPE*), de plantas selecionadas dentro da cultivar BRS 284, em Londrina(LDA) e Ponta Grossa(PGA), safra 2015/16..... 85
- Tabela 3.4** - Rendimento de planta individual (g), Índice de produtividade de planta (*PYI*) Índice de estabilidade (*SI*) e Equação de Prognóstico de Planta (*pPE*), de plantas selecionadas dentro da cultivar BRS 1001IPRO, em Londrina (LDA) e Ponta Grossa (PGA), safra 2015/16..... 86
- Tabela 3.5** - Produtividade média de grãos e características agronômicas de linhagens de soja selecionadas dentro da cultivar BRS 284, em ultrabaixa densidade, através do modelo *Honeycomb Selection Designs*, comparadas à cultivar original, nas Macrorregiões Sojícolas 1, 2 e 3 nas safras 2016/2017 e 2017/18..... 87
- Tabela 3.6** - Teores médios de óleo e proteína de linhagens de soja selecionadas dentro das cultivares BRS 284 e BRS 1001IPRO, em ultrabaixa densidade através do modelo *Honeycomb Selection Designs* durante dois anos (safra 2014/15 e 2015/16) e em um ensaio de competição (safra 2016/17), comparados às cultivares originais ..... 88
- Tabela 3.7** - Produtividade média de grãos e características agronômicas de três linhagens de soja selecionadas dentro da cultivar BRS 1001IPRO, em ultrabaixa densidade, através do método *Honeycomb Selection Designs*, comparados à cultivar original, nas Macrorregiões Sojícolas 2 e 3, na safra 2016/2017 ..... 89
- Tabela 4.1** - Altitude e características químicas do solo, na camada de 0 a 20 cm, nas

áreas experimentais de Londrina/PR e Ponta Grossa/PR.....	99
<b>Tabela 4.2</b> - Rendimento de grãos de planta individual (g), Porcentagem sobre o rendimento médio de grãos de seis plantas vizinhas (% Viz) e Índice de Rendimento de Planta Individual ( <i>PYI</i> ) das 30 melhores plantas selecionadas dentro das cultivares BRS 257 e UEL 175, em ultrabaixa densidade através do modelo <i>Honeycomb Selection Designs</i> sem repetição, em Londrina (LDA) e em Ponta Grossa (PGA), safra 2014/2015.....	112
<b>Tabela 4.3</b> - Rendimento de grãos de planta individual (g), Índice de produtividade de planta ( <i>PYI</i> ), Índice de estabilidade ( <i>SI</i> ) e Equação de Prognóstico de Planta ( <i>pPE</i> ) de plantas selecionadas dentro da cultivar BRS 257, em Londrina (LDA) e Ponta Grossa(PGA), safra 2015/16.....	113
<b>Tabela 4.4</b> - Rendimento de grãos de planta individual (g), Índice de produtividade de planta ( <i>PYI</i> ), Índice de estabilidade ( <i>SI</i> ) e Equação de Prognóstico de Planta ( <i>pPE</i> ) de plantas selecionadas dentro da cultivar UEL 175, em Londrina (LDA) e Ponta Grossa (PGA), safra 2015/16.....	114
<b>Tabela 4.5</b> - Rendimento médio de grãos e características agronômicas de três linhagens de soja derivadas da cultivar BRS 257 e três derivadas da UEL 175, selecionadas em ultrabaixa densidade através do método <i>Honeycomb Selection Designs</i> , comparados à cultivar original, nas Macrorregiões Sojícolas 2 e 3, na safra 2016/2017 .....	115
<b>Tabela 4.6</b> - Teores médios de óleo e proteína de linhagens de soja derivadas das cultivares BRS 257 e UEL 175, selecionadas em ultrabaixa densidade através do modelo <i>Honeycomb Selection Designs</i> durante dois anos (safra 2014/15 e 2015/16) e em um ensaio de competição (safra 2016/17), comparadoa às cultivares originais .....	116

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
2.1	HISTÓRICO DA CULTURA DA SOJA .....	17
2.2	IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA SOJA .....	21
2.3	QUALIDADE E USO INDUSTRIAL.....	23
2.4	RELAÇÃO ÓLEO E PROTEÍNA .....	25
2.5	COMPOSTOS INDESEJÁVEIS PRESENTES NA SOJA .....	26
2.5.1	Os Inibidores de Protease .....	27
2.5.2	As Lipoxigenases.....	28
2.6	MELHORAMENTO DE SOJA.....	29
2.6.1	Mecanismos Geradores de Variação Genética Intracultivar .....	32
2.6.2	Modelo de Seleção em Ultrabaixa Densidade <i>Honeycomb Selection Designs</i> (HSD).....	37
2.7	REFERÊNCIAS .....	47
<b>3</b>	<b>ARTIGO A - SELEÇÃO EM ULTRABAIXA DENSIDADE VISANDO ACESSAR A VARIAÇÃO INTRACULTIVAR PARA RENDIMENTO DE GRÃOS EM SOJA</b> .....	61
3.1	INTRODUÇÃO .....	63
3.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	66
3.2.1	<i>Honeycomb Selection Designs</i> (HSD) sem Repetição (safra 2014/15).....	68
3.2.2	<i>Honeycomb Selection Designs</i> (HSD) com Repetição - R-21 (safra 2015/2016).....	69
3.2.3	Avaliação das linhagens sob competição .....	71
3.3	RESULTADOS .....	73
3.3.1	Safra 2014/15.....	73
3.3.2	Safra 2015/16.....	74
3.3.3	Safras 2016/17 e 2017/18 (Linhagens Seleccionadas Dentro da Cultivar BRS 284):.....	76
3.3.4	Safra 2016/17 (Linhagens Seleccionadas Dentro da Cultivar BRS 1001IPRO).....	77
3.4	DISCUSSÃO .....	78

3.5	CONCLUSÕES .....	83
3.6	REFERÊNCIAS .....	90
<b>4</b>	<b>ARTIGO B - EXPLORAÇÃO DA VARIAÇÃO INTRACULTIVAR EM SOJA ATRAVÉS DO MODELO DE SELEÇÃO HONEYCOMB SELECTION DESIGNS.....</b>	<b>94</b>
4.1	INTRODUÇÃO .....	96
4.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	98
4.2.1	<i>Honeycomb Selection Designs</i> (HSD) sem Repetição (Safr 2014/15) .....	99
4.2.2	<i>Honeycomb Selection Designs</i> (HSD) com Repetição - R-21 (Safr 2015/2016).....	100
4.2.3	Avaliação das Linhagens sob Competição Intraespecífica.....	102
4.3	RESULTADOS .....	104
4.3.1	Safr 2014/2015 (HSD sem Repetição).....	104
4.3.2	Safr 2015/16 (HSD R-21) .....	105
4.3.3	Safr 2016/17 (Ensaio em Rede sob Competição Intraespecífica).....	106
4.4	DISCUSSÃO .....	106
4.5	CONCLUSÕES .....	111
4.6	REFERÊNCIAS .....	117
<b>5</b>	<b>ARTIGO C - ACEITABILIDADE DE EXTRATOS DE GRÃOS DE LINHAGENS DE SOJA OBTIDAS POR SELEÇÃO DENTRO DE CULTIVARES COMERCIAIS.....</b>	<b>122</b>
5.1	INTRODUÇÃO .....	123
5.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	125
5.2.1	Seleção em Ultraabaixa Densidade pelo Modelo <i>Honeycomb Selection Designs</i> .....	126
5.2.2	Análise Sensorial do Extrato de Soja.....	126
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	129
5.4	CONCLUSÕES .....	136
5.5	REFERÊNCIAS .....	137
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>141</b>
	<b>APÊNDICES.....</b>	<b>143</b>

APÊNDICE A - Resistência aos nematóides <i>Meloidogyne incógnita</i> (MI) e <i>Meloidogyne javanica</i> (MJ); resistência às doenças Cancro da haste (Cancro), Fitofora (Fitof); Pústula bacteriana (PB); e <i>Cercospora</i> (CS); teores de óleo e proteína de linhagens selecionadas dentro da cultivar de soja comercial BRS 1001IPRO, em ultrabaixa densidade, pelo modelo Honeycomb Selection Designs, comparadas à cultivar original em Londrina (LDA) e em Ponta Grossa (PGA), safra 2015/2016. ....	144
APÊNDICE B - Resistência aos nematóides <i>Meloidogyne incógnita</i> (MI) e <i>Meloidogyne javanica</i> (MJ); resistência às doenças Cancro da haste (Cancro), Fitofora (Fitof); Pústula bacteriana (PB); e <i>Cercospora</i> (CS); teores de óleo e proteína de linhagens selecionadas dentro das cultivares de soja BRS 257 e UEL 175, em ultrabaixa densidade, pelo modelo Honeycomb Selection Designs, comparadas à cultivar original em Londrina (LDA) e em Ponta Grossa (PGA), safra 2015/2016. ....	145
APÊNDICE C - Teores de óleo e proteína; resistência aos nematóides <i>Meloidogyne incógnita</i> (Mi) e <i>Meloidogyne javanica</i> (Mj); e resistência às doenças Fitofora (Fitof); Pústula bacteriana (PB); e <i>Cercospora</i> (CS) em linhagens de soja selecionadas dentro das cultivares de soja UEL 175, BRS 257, BRS 284 e BRS 1001IPRO, em ultrabaixa densidade pelo modelo Honeycomb Selection Designs, comparadas à cultivar original, avaliadas sob competição na safra 2016/2017. ....	146
APÊNDICE D - Seleção em ultrabaixa densidade, Honeycomb Selection Designs, na avaliação de plantas individuais de quatro cultivares de soja (BRS 284, BRS 1001IPRO, BRS 257 e UEL 175) utilizando um espaçamento de 1 m entre plantas, em Londrina/PR. ....	147
APÊNDICE E - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina - CEP-UEL (CAAE: 79000717.7.0000.5231). ....	148

## 1 INTRODUÇÃO

A soja é uma das principais *commodities* em nível mundial. Devido aos seus altos teores de proteína, óleo, vitaminas, minerais e fibras, o grão apresenta diversas possibilidades de usos como farelo, óleo, biodiesel, entre outros.

Por muitos anos, os programas de melhoramento de soja tinham como objetivo principal desenvolver linhagens mais produtivas, com resistência a doenças e estáveis, visando a utilização do óleo principalmente para alimentação humana e o farelo como fonte proteica para alimentação animal. Contudo, a descoberta de que o consumo da oleaginosa pode ajudar a reduzir os riscos de doenças cardiovasculares, osteoporose, alguns tipos de câncer, além de diminuir o nível de colesterol, gerou uma nova demanda pelo consumo do grão na alimentação humana.

O grão de soja, quando consumido na forma *in natura*, apresenta alguns fatores antinutricionais tais como as lipoxigenases, responsáveis pelo sabor característico da soja (“beany flavour”), e o inibidor de tripsina Kunitz, que impossibilita a absorção de aminoácidos pelo indivíduo que consome o grão. Estes fatores podem ser parcialmente eliminados pelo tratamento térmico, porém a forma mais eficiente de retirá-los dos grãos é através da seleção de genótipos que não apresentem essas características.

O desenvolvimento de uma nova cultivar é uma atividade demorada e onerosa. Estima-se de seis a dez anos o tempo para o lançamento de uma nova cultivar, e os ganhos genéticos são relativamente pequenos, da ordem de 0,59 a 3,5% ao ano. Uma alternativa para aproveitar de forma mais eficiente as cultivares comerciais que apresentam um pool de genes altamente adaptado e com resistência à doenças, é a exploração da variação genética intracultivar.

Apesar da importância, a exploração da variação genética intracultivar não tem sido amplamente utilizada devido à crença de que as cultivares elite são altamente homogêneas. Sabe-se que apesar da homogeneidade destas cultivares, existe uma variação, denominada de variação latente, entre as plantas individuais de uma cultivar que pode ser causada por fatores como recombinação gênica, *crossing over*, amplificação gênica, entre outros. Desta forma, Fasoula (2013) propôs uma nova metodologia conhecida como melhoramento prognóstico (*Prognostic Breeding*).

O melhoramento prognóstico consiste em uma metodologia integrada de melhoramento, que permite a seleção de plantas quanto ao seu potencial produtivo através da

avaliação de dois componentes: produtividade e estabilidade (FASOULA, 2013; GREVENIOTIS; FASOULA, 2016). A estimativa de forma confiável da produtividade e da estabilidade das plantas individuais é assegurada pela unidade de replicação em blocos completos (*MCB – replicated moving complete block*) obtida através da metodologia de seleção em ultrabaixa densidade *Honeycomb Selection Designs* (HSD) (FASOULAS; FASOULA, 1995). A metodologia HSD consiste na seleção de plantas individuais na ausência de competição, comparando a sua produção com a produção das plantas vizinhas, reduzindo os efeitos de heterogeneidade no solo e maximizando a eficiência de seleção.

Em soja, há relatos de ganhos de produtividade de até 22% (FASOULA et al., 2007a,c), através do uso do Modelo de Seleção HSD, todavia, há a necessidade de maiores estudos de forma a investigar a variação intracultivar quanto às demais características almejadas nos programas de melhoramento, tanto para a indústria quanto para o consumo *in natura*.

Desta forma, o objetivo do trabalho foi explorar a variação genética intracultivar em cultivares de soja, buscando melhorar a produtividade e outras características de interesse como a aceitabilidade do extrato de soja, visando a melhoria da qualidade sensorial da bebida. Pretende-se com isso, aproveitar o excelente potencial produtivo, estabilidade e resistência a doenças, principalmente das cultivares convencionais de soja, aumentando sua vida útil no mercado, e em curto espaço de tempo, utilizando o Modelo de Seleção em ultra baixa densidade (*Honeycomb Selection Designs*).

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 HISTÓRICO DA CULTURA DA SOJA

A soja é uma planta pertencente ao reino *Plantae*, divisão *Magnoliophyta*, classe *Magnoliopsida*, ordem *Fabales*, família *Fabaceae* (*Leguminosae*), subfamília *Faboideae* (*Papilionoideae*), gênero *Glycine*, espécie *Glycine max* e forma cultivada *Glycine max* (L.) Merrill. O gênero *Glycine* apresenta várias espécies originadas na África, Ásia Oriental e Austrália (SEDIYAMA, 2009).

De acordo com Miyasaka e Medina (1981), a data de aparecimento da soja é variável, estando compreendida entre 2.838 a.C. e 2.383 a.C. A referência mais antiga que se tem da soja encontra-se no herbário “Pen Ts’ao Kong Mu”, escrito pelo Imperador Sheng-Nung. O Imperador era considerado o pai da agricultura e da medicina, e governava a área Central-Este da China, onde se concentrava a produção de trigo de inverno. (HYMOWITZ; NEWELL, 1981; MIYASAKA; MEDINA, 1981).

A soja permaneceu no Oriente pelos dois milênios seguintes, chegando ao Ocidente apenas no final do século XV. No início do século XVI, a soja chegou à Europa através do cientista alemão Englebert Kaempfer, que viveu no Japão entre os anos de 1690 e 1692, trabalhando na *Dutch East India Company*; nesta época, o cientista publicou um livro intitulado “*Amoenitatum Exoticum*”. Foi a partir deste livro que o mundo Ocidental tomou conhecimento da existência da soja e de como era usada no Japão (HYMOWITZ; NEWELL, 1981). Na **Figura 2.1**, está representado um desenho de Kaempfer onde há uma detalhada descrição de uma planta de soja.

Após a sua chegada à Europa no século XVI, a soja foi submetida, durante vários séculos, à exploração botânica (SEDIYAMA, 2009). O primeiro a descrever cientificamente a planta foi Linnaeus, no ano de 1753, em sua obra “*Species Plantarum*”, onde o autor atribuiu duas descrições distintas para a soja: *Dolichos soja* e *Phaseolus max*. No século seguinte, o gênero e a espécie da soja foram modificados para *Glycine max*, de acordo com as Regras da Nomenclatura Botânica Internacional (HYMOWITZ; NEWELL, 1981; MIYASAKA; MEDINA, 1981).



Fonte: HYMOWITZ; NEWELL, 1981.

**Figura 2.1** – Desenho de Engelbert Kaempfer de uma planta de soja.

No início do século XX, a soja cresceu em importância no Ocidente e o intercâmbio da planta entre o Oriente e o Ocidente se expandiu (MIYASAKA; MEDINA, 1981). Os usos da soja no Ocidente sempre foram distintos dos do Oriente, sendo que entre os principais produtos à base de soja consumidos estavam o óleo, usado na fabricação de margarinas, gorduras, maionese, óleos para sala e molhos, e a proteína, usada como alimento de baixa caloria na alimentação humana e como fonte de proteína na alimentação animal para a criação de porcos, frangos, gados de corte e leiteiro (HYMOWITZ; NEWELL, 1981).

O primeiro relato de soja que se tem nos Estados Unidos data do ano de 1765, de um general da Geórgia chamado Henry Yonge. Ele cultivou a planta a pedido do ex-marineiro da Companhia das Índias Orientais, Samuel Bowen que havia trazido sementes de soja da China para Savannah. A partir de 1766, Bowen começou a cultivar e também a

processar soja em sua própria fazenda em Thunderbolt, Geórgia, produzindo grânulos, molhos e farinha. Bowen patenteou os produtos e os exportava para a Inglaterra. Outra introdução de sementes no país de que se tem conhecimento, foi realizada por Benjamin Franklin, em 1770, quando Franklin enviou sementes de Londres para John Bartram, na Filadélfia (HYMOWITZ; HARLAN, 1983).

Cerca de 50 anos após a chegada aos Estados Unidos, a soja foi introduzida nos jardins botânicos do Estado de Massachusetts. Em 1854, a expedição Perry, em sua volta do Japão, introduziu outras duas variedades de soja no país. Em 1882, uma soja de semente amarela, possivelmente da variedade Mammoth, foi cultivada na estação experimental da Carolina do Norte (MIYASAKA; MEDINA, 1981).

Em meados do ano de 1882, a soja chegou ao Brasil, no estado da Bahia. Em 1908, imigrantes japoneses introduziram a soja em São Paulo e, em 1914, a planta foi introduzida em território gaúcho. Nas décadas que se seguiram, a soja continuou como uma planta hortícola entre os descendentes de imigrantes japoneses e como uma cultura experimental em algumas instituições de pesquisa. A soja apareceu pela primeira vez nas estatísticas no ano de 1941, ano que foi implantada a primeira fábrica de processamento do grão no Rio Grande do Sul (MIYASAKA; MEDINA, 1981; SEDIYAMA, 2009).

Na década de 1950 houve um aumento no cultivo e consequente crescimento do mercado de exportação de soja, devido ao desenvolvimento econômico de vários países resultando em uma mudança na dieta, anteriormente baseada praticamente em produtos vegetais, para uma dieta incluindo produtos animais, principalmente aves; além da ocorrência de um excedente na produção de trigo, forrageiras e algodão, ocorrido após a Segunda Guerra Mundial, levando à restrição da área cultivada por essas culturas (WOLF, 1976).

A década de 1970 marcou a expansão da soja no Brasil, primeiramente, na região Sul e, posteriormente, para o Sudeste, Centro-Oeste e Norte. Antes deste período, a produção de soja se restringia a regiões de latitude superior a 22°, devido a planta ser originada e domesticada na China (35 a 45° de latitude N). A soja é considerada uma planta de dia curto, ou seja, sensível a um fotoperíodo crítico, acima do qual o florescimento é atrasado. Após 1970, houve superação da barreira fotoperiódica da soja e a introdução da característica “período juvenil longo”; estes fatores, associados à mecanização da cultura, possibilitaram o cultivo em regiões com latitude inferior a 15° (SEDIYAMA, 2009).

Apesar de ser uma planta de dia curto, é possível encontrar uma grande quantidade de cultivares de soja com ampla variação de exigências fotoperiódicas, indo desde plantas praticamente indiferentes à duração do dia, até as que chegam a não florescer se não expostas a um fotoperíodo mínimo (MIYASAKA; MEDINA, 1981). De acordo com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa (2011), a adaptação de cultivares de soja a determinadas regiões depende, entre outros fatores, da exigência fotoperiódica, sendo que a sensibilidade ao fotoperíodo é uma característica variável entre as cultivares. Desta forma, a adaptabilidade de cada cultivar varia à medida que o cultivo se desloca em direção ao norte ou ao sul. Todavia, as cultivares que apresentam um período juvenil longo apresentam uma adaptabilidade mais ampla, possibilitando o cultivo em uma maior diversidade de locais (latitudes).

A década de 1970 foi também marcada pela criação da Embrapa, sendo que, no ano de 1975, foi criada a Embrapa Soja, estabelecida provisoriamente junto ao Instituto Agrônomo do Paraná - IAPAR, e transferida em 1989 para uma sede própria, no distrito da Warta, Londrina/PR. No início do desenvolvimento da soja no Brasil, a cultura dependeu, principalmente, de genótipos desenvolvidos nos EUA, sendo que o cultivo restringia-se aos estados da região Sul do país. Até a promulgação da Lei de Proteção de Cultivares no Brasil, em 1997, as instituições públicas dominavam o mercado de sementes, sendo que a Embrapa chegou a deter mais de 50% deste mercado. Todavia, essa participação foi sendo reduzida paulatinamente, à medida em que se aumentava a concorrência de empresas transnacionais e de grupos privados brasileiros, tornando-se mais intensa com o advento das cultivares transgênicas. Desta forma, a Embrapa optou por unir-se à iniciativa privada para ter acesso à tecnologia transgênica mantendo, contudo, o programa de desenvolvimento de materiais genéticos convencionais (DALL'AGNOL, 2016).

No presente século, a cultura da soja cresceu em quantidade e qualidade, sendo exportada para diversos países no Ocidente e no Oriente. Devido à grande importância da cultura em nível mundial, diversas instituições de pesquisa, públicas e privadas, demonstram interesse no melhoramento genético da planta, buscando o aprimoramento de características extrínsecas e intrínsecas, de forma a atender mercados cada vez mais exigentes quanto à qualidade das matérias-primas. Desta forma, os programas visam à produtividade de grãos, à resistência às principais pragas e doenças e outras características agronômicas desejadas pelos agricultores, de maneira que a cultura seja viável economicamente e que os grãos atendam a requisitos industriais de qualidade (SEDIYAMA, 2009).

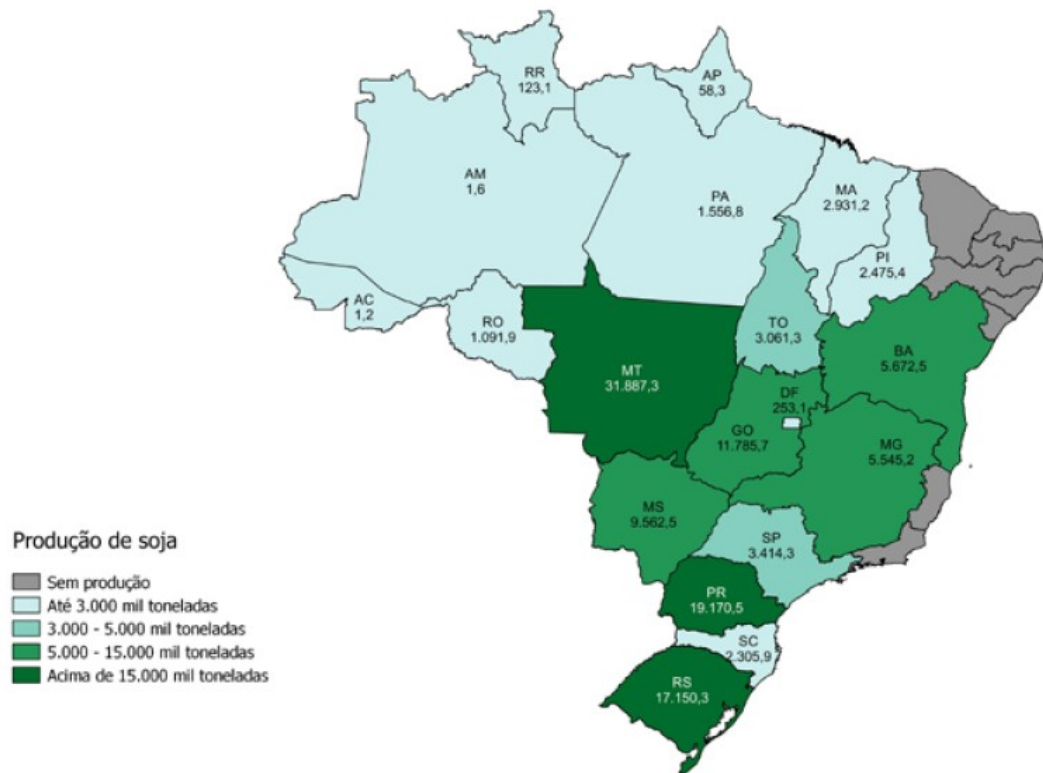
Considerando o mercado crescente e exigente de consumidores de produtos à base de soja, que requerem não apenas quantidade como também qualidade dos produtos consumidos, além da plasticidade do genoma da soja e a variabilidade presente nos bancos de germoplasma, há a necessidade de um melhoramento contínuo da cultura, de forma a colocar anualmente no mercado cultivares mais produtivas e de melhor qualidade nutricional que atendam a esta demanda.

## 2.2 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA SOJA

Uma das principais *commodities* em nível mundial, juntamente com o arroz, o trigo, a cevada e o milho, a soja tem sido utilizada por séculos na alimentação das populações orientais, devido ao alto teor de proteína, abundância em vitaminas, minerais e fibras, e de suas propriedades funcionais benéficas à saúde humana (SEDIYAMA, 2009; LIU; PAN, 2011).

O grão de soja apresenta em sua constituição em média 40% de proteína e 20% de óleo na matéria seca (MORAES et al., 2006; SEDIYAMA, 2009). Devido a estes fatores, entre outros, a soja é considerada um grão de alta versatilidade, podendo ser consumida tanto *in natura* quanto ser processada, originando diversos produtos tais como o óleo refinado, que é obtido através do esmagamento dos grãos, e o farelo, utilizado na alimentação animal (PRIMOMO et al, 2002; SIMAS, 2005; LEITE et al., 2012).

Entre os principais produtores e exportadores globais encontram-se o Brasil, os Estados Unidos e a Argentina, sendo que a maior importadora e consumidora de soja é a China. De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2017a), no Brasil, na safra 2017/2018, a produção de soja foi de 118 milhões de toneladas, superando a safra anterior em 3,5%. Além disso, houve um aumento expressivo da área semeada com a cultura no país, saindo de 33,9 para 35,1 milhões de hectares na safra 2017/18, onde as regiões que mais se destacaram foram Centro-oeste e Sul (Figura 2.2). No Paraná, a área cultivada com a oleaginosa na safra 2017/18 foi de 5.464,8 mil hectares, apresentando rendimento médio de 3.508 kg ha<sup>-1</sup>, com crescimento de 4,1% em relação à safra passada.



Fonte: CONAB, 2018.

**Figura 2.2** – Produção agrícola de soja na safra 2017/18.

Para 2025 é estimado um aumento na área cultivada de soja de 9,7 milhões de ha no país, representando um aumento de 30,8% com relação a área cultivada na safra 2014/15, e um aumento no consumo da ordem de 10 bilhões de t (MAPA, 2015). O aumento de produtividade é considerado o grande desafio para os próximos anos, pois as projeções mostram uma relativa estagnação, cuja média nacional fica em torno de 3 t ha<sup>-1</sup>. De acordo com a CONAB (2017), a soja levou 25 anos (1976/77 a 2000/01) para elevar o patamar de produtividade de 1,5 mil kg ha<sup>-1</sup> para 2,5 mil kg ha<sup>-1</sup> (aumento de 66,6%), sendo que, entre os anos de 2001 e 2016, a soja ultrapassou os 3 mil kg ha<sup>-1</sup> apenas na safra 2010/11.

Com relação ao óleo de soja, a Abiove (2016) estima uma produção de 8,05 milhões de t e uma redução de 1,5% do consumo interno do país em 2016, além de um aumento de 7,1% da exportação, totalizando 1,5 milhão de t. Previsões para 2024/25 indicam que o consumo interno de óleo está estimado em 8,5 milhões de t. Em 2015 a média de uso de óleo de soja para biodiesel foi de três milhões de t, representando 46% da produção de óleo de soja na safra 2014/15, de 6,5 milhões de t (MAPA, 2015). Apesar de, atualmente, a maior parte do óleo processado ser destinada ao consumo humano, a soja tem adquirido uma

importância crescente na produção de biodiesel. As projeções de consumo indicam que deve haver um grande aumento da demanda no mercado internacional e, também, no mercado interno (CONAB, 2017a).

Além das previsões de um mercado promissor de produção e consumo, não só para a alimentação humana e animal como também para a produção de biodiesel, pesquisadores de diversos programas de melhoramento no Brasil reconhecem a importância nutricional e funcional da soja e empenham-se para inseri-la cada vez mais na dieta dos brasileiros. Além de prevenir a desnutrição, ter ótima qualidade nutricional e auxiliar na redução de riscos de doenças cardiovasculares, osteoporose e alguns tipos de câncer, a soja tem vasto potencial para utilização na composição de alimentos, substituindo, parcialmente, fontes proteicas mais caras como a carne, o ovo e o leite (SEDIYAMA, 2009).

### 2.3 QUALIDADE E USO INDUSTRIAL

A soja é amplamente consumida ao redor do mundo devido às suas características nutricionais: por apresentar um elevado teor de proteína de qualidade adequada, conteúdo significativo de minerais e fibras, uma quantidade reduzida de gordura saturada e ausência de colesterol (GRIESHOP; FAHEY JR., 2001). Em termos quantitativos, as principais aplicações dos grãos são as formas processadas como o óleo, que pode ser utilizado em saladas ou frituras e na produção de margarinas e gorduras vegetais, e também o farelo, utilizado na alimentação animal (PRIMOMO et al, 2002; SIMAS, 2005; MORAES et al., 2006; LIU; PAN, 2011; LEITE et al., 2012).

Aves e suínos consomem cerca de 2/3 dos produtos/subprodutos proteicos da soja, os quais representam a principal fonte de proteína das rações no Brasil. O derivado mais utilizado é o farelo de soja, porém para animais monogástricos jovens, podem ser indicados outros produtos de melhor qualidade, como o concentrado e o isolado protéicos (SEDIYAMA, 2009).

A soja também pode ser transformada em outros produtos, como: farinha integral, farinha desengordurada, proteína texturizada de soja, extrato (ou “leite”) de soja, tofu ou “queijo” de soja; todos estes produtos podem ser usados como ingredientes em uma grande variedade de alimentos, tanto para uso geral, como também para vegetarianos/veganos ou para pessoas com intolerância à lactose ou alergia à proteína do leite (GANDHI, 2009).

No atual contexto mundial, um dos assuntos que vêm sendo amplamente difundidos e discutidos nas relações internacionais é o fator energético. Sabe-se que as reservas de petróleo estão cada vez mais escassas e que, além disso, os problemas ambientais, causados pelo uso excessivo de combustíveis de origem fóssil, vêm cada vez mais estimulando a necessidade de se buscar fontes alternativas renováveis de energia (DEMIRBAS, 2007, 2008). Neste contexto, o biodiesel de soja, outro produto que pode ser obtido através do processamento dos grãos, é uma excelente opção para atender a este novo mercado.

Entre as principais vantagens do uso do biodiesel de soja está a diminuição dos impactos ambientais causados pela sua combustão, pois quando se utilizam proporções maiores de biodiesel no combustível, há uma significativa redução do teor de enxofre total e da emissão de particulados. O enxofre apresenta ação corrosiva e pode levar à formação de gases tóxicos, como o  $\text{SO}_2$  e  $\text{SO}_3$ , que, na presença de água, dão origem aos ácidos sulfuroso ( $\text{H}_2\text{SO}_3$ ) e sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), altamente poluentes, além de serem corrosivos para as partes metálicas dos equipamentos (DWIVEDI; AGARWAL; SHARMA, 2006).

Apesar dessas vantagens, o óleo de soja apresenta um elevado número de duplas ligações nas cadeias carbônicas, fazendo com que o biodiesel tenha uma baixa estabilidade oxidativa. Este problema pode ser contornado pela adição de antioxidantes no biodiesel ou através da obtenção de uma cultivar de soja que apresente menores teores de ácido linoleico e maiores teores de ácido oleico na constituição do óleo (SEDIYAMA, 2009).

O reconhecimento da soja como uma fonte proteica de alta qualidade, bem como de outros nutrientes essenciais à dieta humana, como o ferro, o cálcio e as vitaminas, tem despertado o interesse do consumo de soja na alimentação. Atualmente, há um crescente aumento no interesse dos consumidores por uma dieta mais saudável. Diversos estudos realizados abordando o papel da soja na saúde humana verificaram que o consumo de soja pode diminuir riscos para uma ampla gama de doenças como as cardiovasculares, osteoporose, alguns tipos de câncer, além de abaixarem o nível de colesterol (CASSIDY; HANLEY; LAMUELA-RAVENTOS, 2000; MESSINA; GARDNER; BARNES, 2002; KINNEY, 2003; SILVA et al, 2006). Estas constatações resultaram no aumento do interesse do consumidor por produtos à base de soja. Desta forma, companhias alimentícias têm passado a incorporar a proteína de soja a diversos produtos, tais como as barras de cereais, cereais matinais, bebidas e alimentos alternativos à carne (SEDIYAMA, 2009).

Apesar do valor nutricional da soja, os grãos *in natura* apresentam alguns componentes que interferem negativamente no seu uso na alimentação humana e animal, especialmente os inibidores de proteases, que causam problemas na digestão de proteínas, além de outros fatores que conferem odores desagradáveis e sabor adstringente (MENEGUCE et al., 2005).

Em animais monogástricos, os fatores antinutricionais presentes nos grãos conferem um menor ganho de peso e menor crescimento quando utilizados em rações. Como esses fatores são ativos nos grãos crus, há a necessidade de se realizar um processo térmico para inativar esses antinutrientes e aumentar o valor nutricional dos grãos e de seus produtos (FRIEDMAN; BRANDON, 2001).

Com o objetivo de se reduzir os custos do processamento da soja, melhorar as características sensoriais e aumentar a aceitação pelo consumidor, melhoristas de soja têm buscado desenvolver cultivares com baixos teores ou com a ausência de alguns compostos indesejáveis, tais como ausência do inibidor de tripsina Kunitz e das lipoxigenases (DOMAGALSKI et al., 1992; SEDIYAMA et al., 1998); este processo demanda tempo e ampla utilização de recursos humanos e físicos e precisa estar associado a outras características de interesse agrônomo, como a produtividade e os teores de óleo ou proteína nos grãos.

## 2.4 RELAÇÃO ÓLEO E PROTEÍNA

O grão de soja é constituído em média por 20% de óleo na matéria seca (MORAES et al., 2006; SEDIYAMA, 2009), sendo que dentre os principais ácidos graxos que compõem este óleo estão o palmítico (11%), o esteárico (4%), o oleico (25%), o linoleico (52%) e o linolênico (8%) (FEHR, 2007). Existem diversos fatores que podem afetar o teor destes ácidos na semente, entre eles a temperatura.

Sabe-se que a soja apresenta maiores teores de óleo quando cultivada em ambientes mais quentes. Em condições de casa de vegetação, com temperaturas de 21 °C, 25 °C e 29 °C, durante o estágio de enchimento de grãos (R5), foi possível a obtenção de teores de óleo de 19,5, 20,8 e 23,3%, respectivamente (SEDIYAMA, 2009).

Além de ser influenciado pela temperatura, o teor de óleo também tem relação com o teor de proteína na semente. Resultados de pesquisas têm evidenciado a existência de uma correlação fenotípica e genotípica negativa entre óleo e proteína

(HARTWIG; HINSON, 1972; WILCOX; CAVINS, 1995; WILCOX, 1998; COBER; VOLDENG, 2000), entretanto a temperatura não está associada ao conteúdo de proteína da mesma forma que está associada ao teor de óleo (SEDIYAMA, 2009).

Esta correção negativa facilita o desenvolvimento de linhagens com altos níveis de proteína e baixos níveis de óleo, que podem aumentar o valor nutricional de alimentos à base de soja. Germoplasmas que abrangem um amplo espectro de conteúdos de proteína (33,1 a 55,9%) e de óleo (13,6 a 23,6%), estão disponíveis aos melhoristas para que estes possam utilizar em seus programas. Todavia, altos teores de proteína normalmente estão associados a baixas produtividades, o que dificulta o desenvolvimento de cultivares produtivas e com altos níveis de proteína (THORNE; FEHR, 1970).

A herança genética para óleo e proteína é governada por poucos genes, prevalecendo o efeito aditivo (THORNE; FEHR, 1970). Sabe-se também que estas são características herdáveis (DIERS et al., 1992; CHUNG et al., 2003; CLEMENTE; CAHOON, 2009; BOLON et al., 2010), sendo que a herdabilidade no sentido amplo para estes teores tem sido reportada com valores de 0,84 a 0,91 em populações de linhas recombinantes (RILs) com 131 linhagens F6 (HYTEN et al., 2004). Desta forma, cruzamentos simples, retrocruzamentos e seleção recorrente são métodos que podem ser utilizados para melhorar estas características (HARTWIG; HINSON, 1972).

Wilcox (1998), trabalhando com oito ciclos de seleção recorrente, constatou que os alelos para alto teor de proteína foram fixados, na sua maioria, no quinto ciclo de seleção, quando 66% das plantas do ciclo seguinte produziram sementes com  $474 \text{ g kg}^{-1}$ , sem melhorias nos ciclos seguintes. Novamente, a relação inversa entre óleo e proteína se fortaleceu a cada ciclo de seleção.

## 2.5 COMPOSTOS INDESEJÁVEIS PRESENTES NA SOJA

As plantas, de maneira geral, podem responder ao ataque de insetos e doenças através de induções bioquímicas de defesa que podem incluir metabólitos secundários e proteínas que atuam como toxinas e como fatores antinutricionais (MAJOR; CONSTABEL, 2008). Estes compostos indesejáveis, além de atuarem na defesa das plantas, podem ser nocivos à saúde animal, por provocar efeitos fisiológicos adversos (SILVA; SILVA, 2000).

Entre os fatores antinutricionais presentes na soja destacam-se os compostos fenólicos, ácidos fenólicos, fitatos, inibidores de proteases, saponinas, lectinas, oligossacarídeos e peptídeos de baixo peso molecular que, inclusive, são considerados atualmente compostos bioativos, envolvidos na redução dos riscos de doenças crônicas não transmissíveis (MANDARINO, 2008). Alguns destes fatores antinutricionais podem exigir a adoção de diferentes técnicas de processamento do grão cru, como extrusão com álcoois, precipitação de proteína, entre outras, principalmente se estes forem utilizados na alimentação de monogástricos (SEDIYAMA, 2009).

Outra alternativa para se aumentar o valor nutricional da soja é submeter os grãos ao tratamento térmico para inativação dos compostos indesejáveis, assim como as lectinas e os inibidores de proteases, visando o aumento da digestibilidade proteica em consequência da desnaturação das proteínas de reserva (FRIEDMAN; BRANDON, 2001).

#### 2.5.1 Os Inibidores de Protease

Os inibidores de proteases em soja podem ser classificados em duas categorias: os do tipo Kunitz (K<sub>Ti</sub>), que possuem alto peso molecular e têm especificidade primária para tripsina, e os do tipo Bowman-Birk que são mais termoestáveis e tem capacidade de inibir tanto a tripsina como a quimiotripsina. Aproximadamente 80% da inibição da atividade triptica nos grãos de soja é causada pelo fator K<sub>Ti</sub>, resultando na redução da digestão de proteínas da dieta e consequente deficiência na absorção de aminoácidos (LIENER, 1994; MIURA et al, 2001).

Os inibidores de K<sub>Ti</sub> pertencem à família das proteínas anti-paralelas, o que confere a estes grande resistência ao tratamento térmico e à desnaturação química. A proteína é considerada alergênica a alimentação, possuindo 32% de similaridade com o alergênico do pólen de azevém (NATARAJAN et al., 2006).

Devido ao seu alto polimorfismo, uma das aplicações dos inibidores de K<sub>Ti</sub> na pesquisa consiste em estudos de processos evolutivos. Suas distintas formas eletroforéticas são controladas por alelos dominantes em um único loco. Análises das sequências de plantas mutantes sugerem que esta diferenciação tenha ocorrido antes mesmo da domesticação da planta (WANG et al., 2008).

O genoma da soja contém dez genes que controlam a expressão do inibidor K<sub>Ti</sub> durante o ciclo de vida da planta (KRISHNAN, 2001), sendo que destes, apenas um é

responsável pela sua expressão em sementes (ORF; HYMOWITZ, 1979; KIM et al., 1985; JOFUKU; GOLDBERG, 1989). Krishnan (2001), estudando linhagens com a ausência do inibidor de KTi, constatou que o gene não é essencial para o crescimento e desenvolvimento da planta, porém atua como regulador endógeno de proteinases contra o ataque de insetos e microrganismos.

O uso do tratamento térmico visando a inativação no inibidor de KTi, apesar de ser uma alternativa para aumentar o valor nutricional da soja, deve ser controlado para evitar a destruição de aminoácidos essenciais, além de diminuir a disponibilidade de outros nutrientes (VASCONCELOS et al., 2001). Uma alternativa seria a eliminação genética destes inibidores na soja através da seleção de linhagens que apresentem ausência desta característica.

### 2.5.2 As Lipoxigenases

As lipoxigenases são enzimas que constituem cerca de 1% do total de proteínas do grão de soja, e são caracterizadas por catalisar a adição de oxigênio molecular aos ácidos graxos poli-insaturados como o ácido linolênico e o linoleico. Esta ação catalítica é um dos principais fatores que causam o aparecimento de compostos responsáveis pelo sabor característico da soja conhecido como “beany flavour” (AXELROD; CHEESBROUGH; LAASKO, 1981; LANZA, 1995).

Este sabor peculiar do grão de soja é resultante da ação oxidativa de três isoenzimas (Lox1, Lox2 e Lox3), sobre os ácidos graxos poli-insaturados levando à formação de aldeídos. A indústria alimentícia busca a redução deste sabor por meio da inativação térmica das enzimas lipoxigenases; todavia, dependendo do produto e do processamento utilizado, este processo de inativação pode ser oneroso, inconveniente e até mesmo não alcançar a eficiência desejada (SEDIYAMA, 2009).

A herança que controla a presença ou ausência das lipoxigenases presentes nos grãos de soja é mendeliana simples, sendo que os alelos que controlam a ausência destas isoenzimas são recessivos simples (KITAMURA et al., 1983).

Mutantes de lipoxigenases para a ausência de Lox1, Lox2 e Lox3 eram encontrados nos antigos germoplasmas; entretanto, acreditava-se que estes locus em recessividade em conjunto pudessem ser letais para a planta devido ao fato de não serem encontrados naturalmente no ambiente. Davies e Nielsen (1987), através de retrocruzamentos

entre estes mutantes e a cultivar “Century”, obtiveram linhagens duplo nulas ( $Lox1^- Lox3^-$  e  $Lox2^- Lox3^-$ ); já Hajika et al. (1991), por meio do uso de mutações induzidas por radiação com raios- $\gamma$  em sementes de soja, obtiveram um mutante triplo nulo, confirmando a não letalidade dos alelos recessivos, assim como a existência de uma forte ligação entre  $Lox1$  e  $Lox2$ , que impedia o aparecimento da recombinação destes genes de forma natural.

A atividade das lipoxigenases encontradas em mutantes triplo nulo durante a maturação é reduzida e equivalente às encontradas nos duplos nulo, além de que o mutante nulo somente para  $Lox3$  continua a apresentar certo nível de atividade (WANG et al., 1994; TAVARES; TAVARES; MIRANDA, 1993).

A remoção genética das isoenzimas lipoxigenases da soja pode contribuir para uma melhora das características sensoriais dos grãos, pois evita o desenvolvimento do sabor desagradável, podendo resultar em um aumento do consumo de soja na alimentação humana (SEDIYAMA et al., 1998).

## 2.6 MELHORAMENTO DE SOJA

Desde os primeiros trabalhos visando o melhoramento genético de soja, um dos principais objetivos destes programas é o incremento da produtividade dos grãos. Sabe-se que a expressão da produtividade é função dos componentes genéticos e ambientais, assim como da interação entre ambos. Devido à variação ambiental e à interação que estas cultivares apresentam nos vários ambientes, a produtividade é considerada uma característica quantitativa que normalmente apresenta baixa herdabilidade. Este fato dificulta a seleção e a avaliação do potencial produtivo dos genótipos. Como consequência, é necessário realizar uma extensiva rede de ensaios em diversos locais e anos, visando identificar genótipos superiores em produtividade e estabilidade de produção em certa amplitude de ambientes que representem os efeitos limitantes de clima, solo, pragas e doenças (ALMEIDA et al., 1999).

Visando o aumento da variabilidade genética e a recombinação gênica, podem ser adotados métodos como a hibridação na forma de cruzamentos simples, duplos e/ou múltiplos para formar as populações onde serão realizadas as seleções (VELLO; FEHR; BAHRENFUS, 1984). Dentre os métodos comumente utilizados para culturas autógamas, destacam-se o método da população, o retrocruzamento e os métodos que utilizam algumas combinações ou modificações do método genealógico e da população (MIYASAKA; MEDINA, 1981).

O método da população (ou “Bulk”) é o mais conhecido na obtenção de linhagens homozigotas de um cruzamento ano após ano, sem realizar nenhuma seleção nas gerações segregantes até que se atinja certo grau de homozigose (geração  $F_6$ ). Dentre as principais vantagens deste método estão a simplicidade e o baixo custo, além da facilidade de associação a outros métodos. Todavia, parte das plantas de uma geração não é representada na geração seguinte e o método demanda a avaliação de um grande número de plantas nas gerações mais avançadas de teste de progênies, pois a seleção natural não atua na eliminação de plantas com baixo desempenho para características como maturação, resistência a pragas e doenças, acamamento e deiscência de vagens (MIYASAKA; MEDINA, 1981; DESTRO; MONTALVÁN, 1999).

Outro tipo de método também utilizado no melhoramento de autógamias é denominado de método genealógico (ou “Pedigree”). Este método consiste na seleção de plantas promissoras a partir de  $F_2$ , quando as plantas ainda estão segregando, mantendo-se um controle minucioso das progênies de cada planta selecionada até atingir uma considerável homozigose. Neste método, os melhoristas têm um maior controle e conhecimento sobre os genótipos avaliados, há uma maximização da variabilidade genética entre as linhagens puras obtidas e um menor número de materiais para teste, quando comparado com o método anterior. Entretanto, é um método trabalhoso e demanda pessoas experientes para realizar a seleção nas gerações mais precoces (MIYASAKA; MEDINA, 1981; DESTRO; MONTALVÁN, 1999).

O método genealógico modificado, mais conhecido como SSD (“Single Seed Descent”: descendente de uma única semente), consiste essencialmente em se colher uma semente de cada planta na geração  $F_3$  e gerações seguintes. Após atingir um determinado nível de homozigose, cada progênie é mantida em mistura. Desta maneira, o método elimina as desvantagens do método da população, pois permite a seleção para caracteres de alta herdabilidade em qualquer nível de homozigose e supera o método genealógico com respeito aos trabalhos de anotações e testes de progênies. Porém, a seleção para caracteres de baixa herdabilidade não é eficiente quando baseada em plantas individuais, comparadas com linhas, sendo que a identidade de algumas plantas  $F_2$  superiores é perdida, não podendo ser recuperada, pois estas ainda estavam segregando e poderiam ainda não ter sido manifestadas fenotipicamente (MIYASAKA; MEDINA, 1981).

O método do retrocruzamento é um procedimento que permite a transferência de um gene, ou de poucos genes, de um parental denominado não recorrente ou

doador (PD) a outro chamado recorrente (PR). Uma das vantagens do método é a certeza de que se obterá uma cultivar com, aproximadamente, a mesma adaptação, produtividade e demais qualidades do PR, sendo, porém, superior a este parental na característica específica para o qual ele foi conduzido (DESTRO; MONTALVÁN, 1999). O método foi muito utilizado para inserir o gene EPSPS (que confere tolerância ao herbicida glifosato) em cultivares adaptadas de soja. É um método trabalhoso e nem sempre eficiente, pois há a possibilidade de ocorrer uma interação negativa do gene inserido com outros genes do PR, fato que ocorreu, por exemplo, entre o gene EPSPS e a cultivar BR 16 da Embrapa (PÍPOLO et al., 2007).

Os métodos de melhoramento empregados no desenvolvimento de novas cultivares têm limitado severamente a diversidade do germoplasma empregado, causando com isso, grande uniformidade genética. Sabe-se que o desenvolvimento de uma nova cultivar é uma atividade demorada e onerosa; uma vez que a variabilidade tem sido cada vez mais limitada e os ganhos genéticos anuais cada vez menores (TOLEDO et al., 1990; ALLIPRANDINI et al., 1993; LANGE; FEDERIZZI, 2009; PAGLIOSA, 2016; MEZZALIRA, 2017), uma alternativa para se obter cultivares mais produtivas é através da exploração da variação genética intracultivar.

Apesar de importante, a exploração da variação genética intracultivar não tem sido utilizada devido à crença de que as cultivares elite são amplamente homogêneas. Resultados de experimentos de seleção dentro de materiais considerados homogêneos sugerem que o genoma é mais flexível e plástico do que era previamente assumido. Em estudos de seleção para teores de óleo e proteína em milho (*Zea mays* L.) conduzidos pela Universidade de Illinois, a seleção foi praticada por 100 gerações e a variação continuou suficiente para se obter progressos (DUDLEY; LAMBERT, 2004).

Embora seja observada uma homogeneidade nas cultivares elite, existe a variação genética latente entre plantas individuais de uma cultivar, além de que mecanismos que geram uma nova variação (variação “de novo”) podem estar presentes. Rasmusson e Philips (1997) reportaram que existem mecanismos que podem proporcionar uma contínua fonte de variação genética e lançaram a hipótese de que o ganho de seleção ocorre devido à variação presente no *pool* de genes original. De acordo com os autores, os mecanismos que podem gerar essa variação “de novo” são a recombinação intragênica, transposons, *crossing over*, metilação do DNA, amplificação gênica e mutação. Sabe-se que estes mecanismos que criam novas variações podem acumular mutações indesejáveis que contribuem, gradualmente,

para a degeneração de uma cultivar (FASOULA, 1990, 2012; TOKATLIDIS et al., 2011); todavia, esta variação pode ser explorada pelo melhoramento, além de que estas características indesejáveis podem ser selecionadas e eliminadas.

### 2.6.1 Mecanismos Geradores de Variação Genética Intracultivar

O desenvolvimento de cultivares elite melhoradas é uma atividade demorada e onerosa. Sendo assim, a forma como a semente melhorada é conservada ao longo dos anos é de suma importância. Teoricamente, cultivares monogenóticas (linhagens puras e seus híbridos) são geneticamente homogêneas e estáveis. Essas cultivares geralmente são tratadas como registros permanentes com variação genética limitada ou sem importância (YATES et al., 2012), não sendo empregados esforços visando melhorar suas características agronômicas, uma vez que a cultivar é considerada como estável (PARLEVLIET, 2007).

Sabe-se que, em longo prazo, cultivares elite amplamente cultivadas por agricultores podem perder sua identidade genética, assim como ter a produtividade reduzida. Forças contaminantes e degradantes tais como fecundação cruzada, plantas voluntárias, mistura física, seleção natural, mutações e doenças transmitidas por sementes, são a base desta degradação (KELLY, 1988; LAVERACK, 1994; PARLEVLIET, 2007). Mecanismos genéticos e epigenéticos que geram uma nova variabilidade, conhecida como variação ‘de novo’, também podem resultar em uma variação intracultivar considerável (MCCLINTOCK, 1984, RASMUSSEN; PHILLIPS, 1997). Características ambientais, incluindo as provocadas por mudanças climáticas, podem acelerar a taxa de alteração do genoma de forma negativa.

Numerosos estudos indicaram a existência de uma variação fenotípica intracultivar significativa em diversas culturas (SPRAGUE et al., 1960; BYTH; WEBER, 1968; GORDON; BYTH, 1972; TOKATLIDIS et al., 2004; FASOULA; BOERMA, 2005). Todavia, pouco se sabe sobre os mecanismos que levam à geração desta variabilidade genética intracultivar (HAUN et al., 2011). No entanto, por consenso geral, a heterozigose residual devido à segregação de *loci* parental durante o processo de reprodução é presumivelmente uma fonte (FLEMING et al., 1964; RUSSELL; VEGA, 1973; BOGENSCHUTZ; RUSSELL, 1986; RASMUSSEN; PHILLIPS, 1997; YATES et al., 2012). Ao término de uma geração de autofecundação, qualquer *loci* heterozigoto restante irá segregar em gerações subsequentes, levando a um determinado grau de variação planta a planta (HAUN et al., 2011). A heterogeneidade adicional resultante pode ser devido à

variabilidade gerada ‘de novo’ resultante de mutações espontâneas (SPRAGUE et al., 1960; SHAW et al., 2000; OSSOWSKI et al., 2010) ou novos eventos de recombinação decorrentes de processos genéticos e epigenéticos (CULLIS, 1990, 2005; RASMUSSEN; PHILLIPS, 1997; MORGANTE et al., 2005; PETERSON, 2008; TSAFTARIS et al., 2008; SINAPIDOU; TOKATLIDIS, 2011).

Em uma palestra, a ganhadora do Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina em 1983, Barbara McClintock (1984) argumentou que o genoma de muitos organismos é altamente sensível a eventos incomuns e inesperados, e pode se modificar em resposta a forças ambientais. A conclusão foi alcançada através de estudos do sistema *Dissociation-Activator* (Ds-Ac) de duas unidades em milho que revelaram um conjunto de eventos nucleares, incluindo a ativação de transposon e várias alterações cromossômicas e rearranjos (MCCLINTOCK, 1950).

Zeven (1980) afirmou que uma cultivar, mesmo autógama, muda com o tempo devido à mutação e à segregação, sendo que o mesmo se aplica a linhagens irmãs de culturas alógamas, como o milho e o girassol. De acordo com o autor, mutações para rendimento e qualidade não são facilmente observadas e podem aumentar de frequência, devido à deriva aleatória ou por seleção natural, alterando assim a cultivar.

Especula-se que *pools* de genes elite possuem mecanismos inerentes que fornecem uma fonte contínua de variabilidade genética (em pequena escala na maioria dos casos) graças à plasticidade do genoma (RASMUSSEN; PHILLIPS, 1997). Biólogos moleculares descobriram que o genoma sofre uma remodelação e reestruturação constante por meio de diversos fatores como recombinação intragênica, *crossing over* desigual, metilação do DNA, excisão ou inserção de elementos transponíveis, duplicação gênica, restauração genética, entre outros (WALBOT; CULLIS, 1985; CULLIS, 1990; RASMUSSEN; PHILLIPS, 1997; LOLLE et al., 2005; MORGANTE et al., 2005, SPRINGER; STUPAR, 2007; PETERSON, 2008.). Este conhecimento adicional revela que o genoma tem mecanismos endógenos para ser flexível, plástico e dinâmico. É graças a esta versatilidade que, mesmo os pequenos *pools* gênicos, apresentam uma nova variabilidade genética em resposta aos estresses (TSAFTARIS et al., 2008).

Uma imagem concisa dos mecanismos genéticos e epigenéticos que levaram à uma maior biodiversidade nas populações de plantas foi dada por Sinapidou e Tokatlidis (2011). Os autores referiram-se a mutações em pequena escala relativas às mudanças de nucleotídeos dentro de um gene e mutações em larga escala relativas a mudanças no número

de genes ou na disposição dos genes em um cromossomo. Alguns elementos transponíveis podem expandir genomas através de duplicações, enquanto outros podem atuar na função de corte e colagem ou de reparação de lacunas (SLOTKIN; MARTIENSSEN, 2007). Elementos transponíveis ativos são altamente mutagênicos causando alterações tanto no nível de gene quanto de genoma. Kidwell e Lisch (2002) descobriram que a frequência de mutações causadas por elementos transponíveis excede a de produtos químicos e radiações fortes. Os transposons geralmente se expressam produzindo novos fenótipos. Novos mapas de ligação e uma recombinação mais fácil com altas frequências poderiam então ser obtidas através do cruzamento de novas variantes com genes transponíveis.

Outro mecanismo que também pode promover a geração de variação 'de novo' é a metilação do DNA, relacionada à atividade dos elementos transposon, ocorrendo quando a planta encontra-se em condições de estresse. Tsiftaris e Kafka (1998) descreveram que, em milho, o estresse do cultivo adensado induz uma maior metilação do elemento *Ac*, enquanto as plantas que crescem sob densidades muito baixas exibem níveis mínimos de metilação. Notavelmente, a citosina metilada pode ser mutagênica através da desaminação espontânea da timina (TSAFTARIS et al., 2008).

A acetilação e a desacetilação de histonas também podem causar modificações que afetam a expressão gênica com fatores de transcrição, principalmente em resposta a estímulos de estresse biótico e abiótico (CHINNUSAMY; ZHU, 2009). A identificação de pequenas moléculas de RNA não codificantes, implicadas na regulação endógena de genes e no controle de entidades genéticas invasoras, pode elevar os processos epigenéticos adicionais (BARTEL, 2004; TSAFTARIS et al., 2008). Tais moléculas de RNA pequenas, incorporadas em complexos de RNA, participam do silenciamento de RNA mensageiro. As modificações específicas das histonas e a produção de RNA pequenos foram diretamente correlacionadas com a metilação do DNA (LISTER et al., 2008; ZHU, 2008); assim, eles poderiam se transformar em marcas de metilação de DNA mais estáveis.

Ao investigar o conteúdo de nucleotídeos, Haun et al. (2011) atribuíram a variação genética observada na cultivar de soja 'Williams 82' à segregação diferencial de regiões cromossômicas polimórficas nas sucessivas gerações de autofecundação. As regiões de heterogeneidade genômica possuem uma alta taxa de variação de conteúdo gênico, resultando em heterogeneidade genética intracultivar significativa.

Evidências da variação genética intracultivar já foram verificadas em diversas outras culturas além da soja. Por exemplo, em linhagens endogâmicas de milho foi

verificado um acúmulo de diferenças significativas para diversas características quantitativas que excederam as frequências usuais de mutação espontânea (BOGENSCHUTZ; RUSSELL, 1986; RUSSELL et al., 1963). Em linho foram observadas variações herdáveis para altura, massa de planta, quantidade total de DNA nuclear (EVANS et al. 1966) e mobilidade de isoenzimas (CULLIS; KOLODYNSKA, 1975). Estudos posteriores em linho demonstraram que estas mudanças estavam associadas a alterações não aleatórias no DNA e a rearranjos cromossômicos (SCHNEEBERGER; CULLIS, 1991; CHEN et al., 2005, 2009).

Na cultura da soja, a exploração contínua da variação intracultivar é particularmente complexa, dado ao gargalo genético ocasionado durante o processo de domesticação da soja, que acabou contribuindo para a redução da diversidade genética e consequente perda de alelos raros (HYTEN et al., 2006). Sabe-se que tanto a soja (*G. max*) quanto o seu progenitor *G. soja* têm 40 cromossomos ( $n:20$ ). Desta forma, propõe-se que estas espécies tenham sido originadas como auto-tetraploides ou alo-tetraploides (HADLEY; HYMOWITZ, 1973). Estudos citológicos de uma linhagem haploide mostraram determinado pareamento entre cromossomos, indicando que estes cromossomos podem compartilhar sequências semelhantes. Devido à perda de diversidade durante a domesticação, espera-se que a magnitude da variação genética dentro dos *pools* genéticos homogêneos seja limitada. Todavia, de acordo com Wilson et al. (2014) os ganhos genéticos anuais para produtividade nos EUA aumentaram de 1924 a 2010 a uma taxa linear de  $23,4 \text{ kg ha}^{-1}$ , sugerindo que, apesar da existência deste gargalo genético, é possível continuar aprimorando as características agrônômicas através do melhoramento.

Espinosa et al. (2015) estudando a geração espontânea de variações alélicas ‘de novo’ em três linhagens irmãs de soja e seus cruzamentos, causadas pelo estresse abiótico induzido através de envelhecimento acelerado, verificaram que uma planta  $F_2$  mostrou uma mudança no *locus Aconitase-4 (Aco4)* com relação ao genótipo heterozigótico esperado *Aco4-ac* a *Aco4-ab*. Em linhagens, vários casos de mudança de alelos foram detectados no *locus Aco4*. Os autores também observaram alterações simples e duplas que eram estáveis e hereditárias.

O avanço das técnicas de análise de DNA tem ajudado no entendimento das possíveis variações genéticas de indivíduos que podem ser reveladas a nível genômico. Por exemplo, marcadores moleculares RFLPs ("Restriction Fragment Length Polymorphism" ou "Polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição") foram utilizados na identificação de variações ‘de novo’ em linhagens endogâmicas de soja, submetidas à manipulação em

cultura de nos estudos de Roth et al. (1989), onde foram observados novos alelos RFLP nos tecidos das raízes das linhagens endogâmicas de soja ‘Minsoy1’ e ‘Noir 1’ e em tecidos de raízes de plantas híbridas F<sub>1</sub> entre estas duas linhagens. Estes alelos, em particular já haviam sido caracterizados em outras cultivares de soja, mas não em ‘Minsoy’ ou ‘Noir 1’, de onde os explants foram obtidos. Os autores sugerem que os alelos podem ter sido modificados a alelos conhecidos em resposta ao estresse promovido pela propagação *in vitro*.

No estudo de Roth et al. (1989), as estruturas precisas dos rearranjos não foram analisadas. Contudo, em dois exemplos (APUYA et al., 1988) nos quais fragmentos de DNA genômico foram comparados, previamente, a mapas de restrição de um clone lambda de onde sondas foram derivadas (uma delas envolvendo a análise do clone G-17), a comparação indicou que os rearranjos podem envolver a substituição de um segmento de DNA por outro, ou seja, através de conversão gênica (BORST; GREAVES, 1987). Exemplos destes mecanismos já haviam sido reportados por Vodkin, Rhoades e Goldberg (1983), que descreveram a inserção de um elemento transposon no gene da lectina em soja, resultando na perda da atividade do gene.

Utilizando marcadores moleculares microssatélites (SSR – “Single Sequence Repeat”), Yates et al. (2012) determinaram que entre 82 e 93% da variação detectada em sementes de cultivares comerciais de soja “Benning”, “Haskell”, e “Cook”, foram atribuídas à heterozigossidade residual na seleção inicial das plantas. Todavia, os autores verificaram que entre 7 e 18% da variação não podia ser explicada pela heterose residual, atribuindo então esta variação à mecanismos relacionados à geração de variação “de novo”.

Mecanismos que criam novas variações podem acumular mutações indesejáveis e contribuir gradualmente para a degradação da cultivar (FASOULA, 1990, 2012; TOKATLIDIS et al., 2006, 2011). Portanto, esta variação pode ser explorada pelo melhoramento, de modo a selecionar mutações desejáveis e eliminar todas as indesejáveis. Em *pools* de genes estreitos, ganhos consideráveis de seleção podem ser obtidos para as principais culturas devido à variação no *pool* genético original, bem como devido à geração de variação ‘de novo’ (RASMUSSEN; PHILLIPS, 1997). Contudo, para explorar essa variação, é pré-requisito uma condição específica, que permite a identificação das diferenças entre as plantas individuais. Tal condição é satisfeita quando as plantas individuais são amplamente separadas, de modo a evitar qualquer interferência de planta para planta quanto ao consumo de recursos (TOKATLIDIS, 2015).

Uma cultivar comercial usualmente apresenta um *pool* genético estreito, portanto, sua variabilidade é detectável e lucrativamente explorável somente em condições que permitam o reconhecimento e a seleção de genótipos desejáveis. Sabe-se que o rendimento de grãos, em nível de planta única, aumenta em densidades mais baixas e atinge o máximo na ausência de competição (KYRIAKOU; FASOULAS, 1985; FASOULA; FASOULA, 1997; FASOULA; TOKATLIDIS, 2012). Assim, a competição nula intensifica a expressão fenotípica da variabilidade genética intracultivar, facilitando a detecção de genótipos de alto rendimento.

Outro aspecto de relativa importância que deve ser considerado é a relação entre rendimento e capacidade competitiva; dois traços agrônômicos distintos e inversamente associados (KYRIAKOU; FASOULAS, 1985; FASOULA, 1990; SEDGLEY, 1991; FASOULA; FASOULA, 1997; PAN et al., 2003; FASOULA; TOKATLIDIS, 2012; NINOU et al., 2014).

Uma maior herdabilidade de rendimento de sementes por planta em condições de competição nula, ao invés de altas densidades, constitui outro elemento favorável. Estudos em centeio (KYRIAKOU; FASOULAS, 1985) e milho (TOKATLIDIS et al., 2010) verificaram que a ausência de competição melhora a herdabilidade por minimizar a variação adquirida decorrente de fontes não genéticas e minimizar a influência da competição na identificação de genótipos superiores (FASOULA; TOKATLIDIS, 2012). Assim, a ausência de competição é a condição ideal para a administração de sementes melhoradas de forma a assegurar a conservação das cultivares, particularmente nas culturas desenvolvidas para a produção de sementes.

Considerando todos estes fatores, um método alternativo que visa a exploração da variação genética intracultivar através da seleção de plantas sob ausência de competição, é o modelo desenvolvido por Fasoulas e Fasoula (1995) de seleção em ultrabaixa densidade *Honeycomb Selection Designs* (HSD), como detalhado a seguir.

#### 2.6.2 Modelo de Seleção em Ultrabaixa Densidade *Honeycomb Selection Designs* (HSD)

O melhoramento genético de plantas contribui para o aumento da produtividade das culturas por aumentar a adaptabilidade dos genótipos, melhorar a resistência a pragas e doenças e aumentar a responsividade da cultura a novas tecnologias (EVANS, 1980). Sabe-se que, atualmente, os métodos empregados no desenvolvimento de

novas cultivares têm limitado severamente a diversidade do germoplasma empregado, causando com isso, grande uniformidade genética (MIYASAKA; MEDINA, 1981). Diversos estudos confirmam esta limitação, mostrando ganhos genéticos anuais de seleção para rendimento de grãos de soja no Brasil, da ordem de 0,38% e 3,49% (TOLEDO et al., 1990; ALLIPRANDINI et al., 1993; LANGE; FEDERIZZI, 2009; PAGLIOSA, 2016; MEZZALIRA, 2017).

Segundo Fasoula (1981; 1993), para conseguir superar estas dificuldades enfrentadas atualmente, os programas de melhoramento deve basear-se em determinados princípios, tais quais a ausência de competição durante a seleção; a distribuição espacial das plantas no campo, que permita a redução dos efeitos causados pela heterogeneidade do solo; e a exploração da capacidade produtiva individual da planta, visando explorar a variação genética intracultivar, pouco explorada atualmente.

Todavia, para que o potencial individual de uma planta seja aumentado, o ambiente em que esta é cultivada deve ser estável. A interação entre a composição genética e o ambiente é tal que os rendimentos potenciais são expressos apenas em determinadas condições de cultivo ou ambientes específicos; ou seja, a maioria dos genótipos melhorados cultivados não são capazes de expressar o seu alto potencial sobre altas densidades de semeadura e condições limitadas de recursos (FASOULA, 2012), como as utilizadas nos dias atuais.

Kyriakou e Fasoulas (1985) demonstraram a existência de uma correlação negativa entre a produtividade e a habilidade competitiva. Esta correlação inversa é determinante na degeneração de uma cultivar, principalmente devido à proliferação preferencial e gradual de características agrônômicas indesejáveis (TOKATLIDIS, 2015). Os autores também verificaram que o progresso obtido através da seleção é alcançado quando as plantas são cultivadas a distâncias que anulem a competição intraespecífica. Em um trabalho posterior, Fasoula (1990) mensurou, pela primeira vez, a correlação entre a produtividade e a habilidade competitiva, observando uma correlação alta e negativa entre os dois fatores. Esta correlação negativa foi interpretada como a principal causa da degeneração das cultivares e da ineficiência da seleção durante as gerações segregantes de um programa de melhoramento.

As vantagens e desvantagens competitivas entre os genótipos podem ser induzidas tanto pelo genótipo quanto pelo ambiente e resultam em um aumento das diferenças no crescimento e no desenvolvimento das plantas. Estas vantagens e desvantagens são decorrentes das diferenças entre plantas devido à “habilidade genética competitiva” dentro de

uma população heterogênea cultivada sob condições limitadas de recursos como água, radiação solar, nutrientes, entre outros. Uma alta habilidade competitiva significa que o genótipo permite com que a planta consiga mais recursos do que as vizinhas menos competitivas (FASOULA; TOKATLIDIS, 2012).

Em vista disso, Fasoula (1981) propôs um modelo de seleção em ultrabaixa densidade denominado *Honeycomb Selection Designs* (HSD). O Modelo HSD é uma metodologia que surgiu como resultado de uma pesquisa de vários anos devido à estagnação do ganho genético do melhoramento de plantas. Sabe-se que o desenvolvimento de uma nova cultivar é uma atividade cara e trabalhosa e que a longevidade das cultivares no mercado não é grande (TOKATLIDIS, 2015).

Estes estudos, iniciados há 30 anos (FASOULA, 1988; FASOULA, 1993), sintetizaram cinco causas principais que afetam a eficiência de seleção, sendo elas: a densidade e a competição, a heterogeneidade do solo, a heterozigose, a interação genótipo x ambiente, além de outras causas desconhecidas. Como já comentado anteriormente, trabalhos já demonstraram que, dentre estes fatores, um dos mais impactantes na eficiência da seleção é a densidade (FASOULA, 1990; FASOULA; FASOULA, 1997; KOTZAMANIDIS; LITHOURGIDIS; ROUPAKIAS, 2009; FASOULA; TOKATLIDIS, 2012).

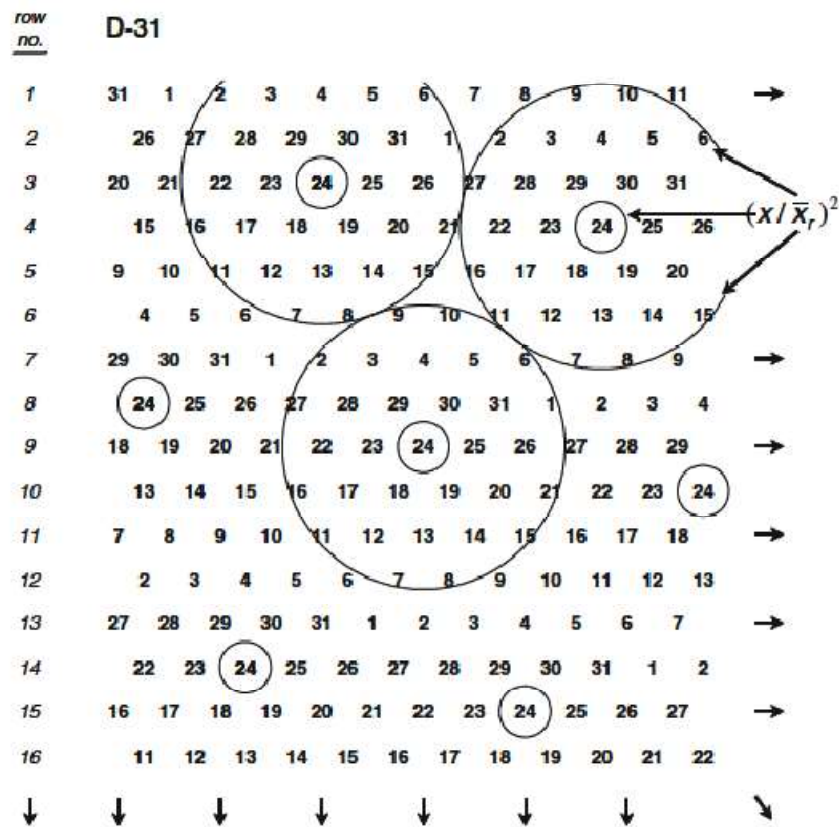
Contudo, existe a possibilidade da correlação entre a produtividade de uma planta individual, avaliada sob condições de competição nula, com o potencial produtivo da cultura. Esta questão foi esclarecida por Fasoula e Fasoula (2000) que dividiram o potencial produtivo das culturas em três componentes, todos mensurados na ausência de competição: i) potencial de rendimento por planta, estimado pela produtividade média da progênie ( $\bar{X}$ ); ii) estabilidade, estimada pela produtividade média padronizada ( $\bar{X}/s$ ), onde  $\bar{X}$  e  $s$  representam a média e o desvio padrão das entradas/linhagens, respectivamente; e iii) adaptabilidade ou capacidade de resposta estimada pelo diferencial de seleção padronizado [ $(\bar{X}_{sel} - \bar{X})/s$ ].

A independência entre esses três componentes genéticos foi a chave para a predição, pela primeira vez, da possibilidade do desenvolvimento de cultivares monogenotípicas de “densidade neutra”, ou seja, capazes de expressar a produtividade máxima sob uma ampla gama de densidades de semeadura, embora possua, simultaneamente, altos rendimentos por hectare sob estandes padrões (FASOULA, 2012). Esses parâmetros são maximizados quando as plantas são cultivadas em ausência de competição e minimizados quando as plantas são submetidas a altos estandes. Entretanto, a redução do número de plantas

selecionadas também traz riscos devido a outros efeitos que influenciam negativamente a eficiência da seleção, em especial a heterogeneidade do solo (FASOULA; FASOULA, 2000).

Este efeito pode ser reduzido através da aplicação do modelo de seleção em ultrabaixa densidade *Honeycomb Selection Designs* (HSD) proposto por Fasoulas e Fasoula (1995), o qual é um modelo experimental avançado, adaptado de forma a maximizar a eficiência de seleção por reduzir o efeito da heterogeneidade do solo e da estimativa de produtividade baseada em apenas uma planta. Um exemplo do Modelo HSD está esquematizado na Figura 2.3. O modelo avalia 31 entradas, onde as plantas estão dispostas em linhas horizontais no campo, em ordem crescente, de forma que sejam evitados erros ou problemas na sementeira.

Como mostrado na Figura 2.3, cada planta ocupa o centro de uma “grade móvel” (*moving grid*) que possui todas as entradas representadas. Esta disposição simétrica permite o uso da média da produtividade das plantas incluídas dentro do círculo, que contém uma representante de cada entrada, como um denominador comum e converte a produtividade de cada planta em um índice sem unidade ( $x/\bar{X}_r$ ), onde  $x$  é a produtividade de cada planta e  $\bar{X}_r$  é a produtividade média das plantas incluídas dentro do círculo. O índice de produtividade por planta  $(x/\bar{X}_r)^2$  não apresenta o efeito do mascaramento causado pela heterogeneidade do solo e permite a classificação das plantas de forma eficiente, de acordo com o seu verdadeiro potencial produtivo (FASOULA, 2008, 2009).



Fonte: FASOULAS; FASOULA, 1995.

**Figura 2.3** – Modelo de seleção em ultrabaixa densidade *Honeycomb Selection Designs D-31*.

\*Modelo HSD D-31 avaliando 31 plantas em ordem crescente e em linhas horizontais. O rendimento médio de grãos de cada planta individual é comparados com o rendimento médio das plantas vizinhas presentes dentro da “grade móvel” (*moving grid*).

Em estudos mais recentes, Fasoula (2013) propôs a seleção de plantas quanto ao seu potencial produtivo através da avaliação de não mais três componentes, como anteriormente comentado, mas em dois componentes principais: a produtividade e a estabilidade. A partição da produtividade em dois componentes – genes controlando o potencial produtivo e genes controlando a estabilidade – tem sido fundamental para a eficiência de seleção das plantas “campeãs” de produtividade em cada geração. Este fato abriu caminho para o desenvolvimento de uma nova equação, permitindo o aumento do ganho genético anual e a maximização da eficiência de seleção.

A nova equação desenvolvida por Fasoula (2013), denominada de equação de prognóstico de planta (*pPE*), é obtida a partir das estimativas de rendimento de planta individual e estabilidade. Sendo assim, para calcular a equação, primeiro estima-se o índice de rendimento da planta individual (*PYI*):

$$PYI = (x/\bar{x}_r)^2,$$

onde  $x$  corresponde à produtividade média de cada planta individual, e  $\bar{x}_r$  corresponde à média de produtividade das plantas vizinhas dentro da unidade móvel de repetição (*moving replicate*) (Figura 3.6); e posteriormente, o índice de estabilidade ou coeficiente de homeostase (*SI*):

$$SI = (\bar{x}_g/s)^2,$$

onde  $\bar{x}_g$  representa a produtividade média de cada linhagem a qual cada planta pertence, e  $s$  o desvio padrão da linhagem.

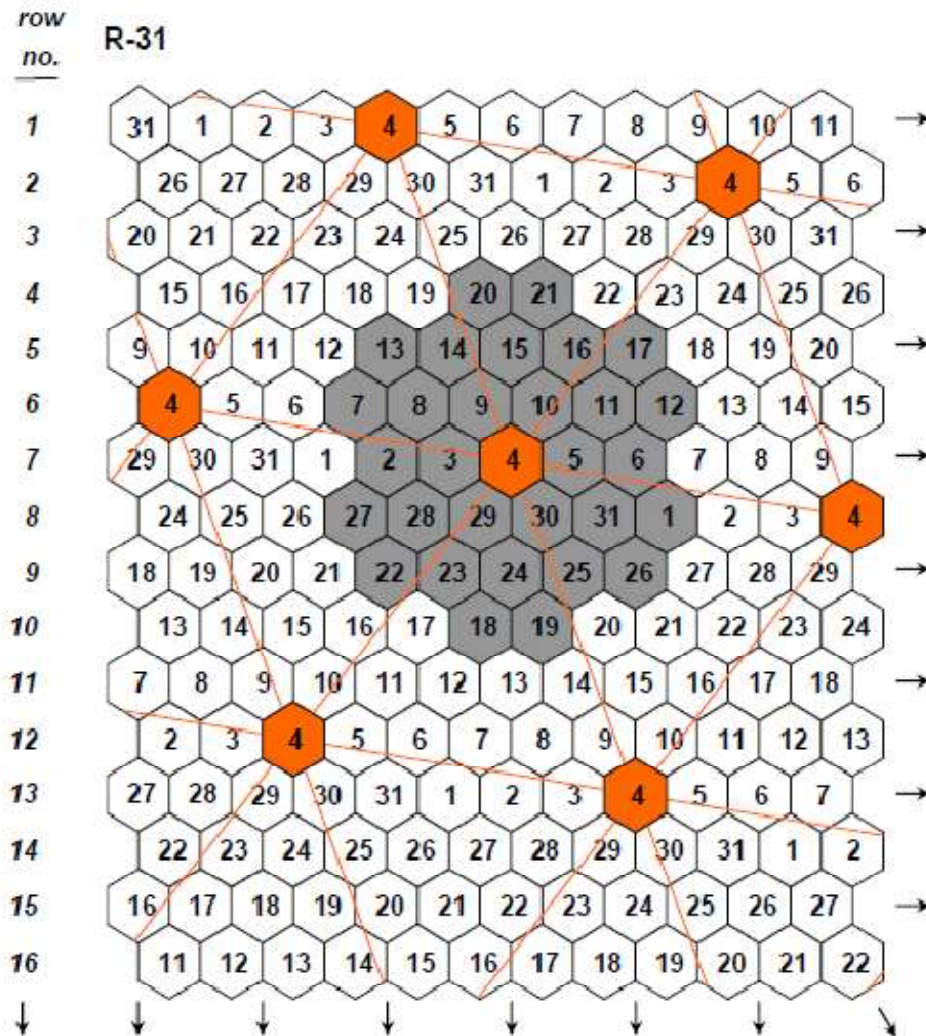
O coeficiente de homeostase, ou *SI*, incorpora cada fator que afeta a estabilidade da performance, incluindo a herdabilidade, heterozigose, estresses bióticos e abióticos, alta densidade de semeadura, e qualquer outra fonte que contribua com a variabilidade da produtividade. A homeostase, ou a estabilidade produtiva de uma cultivar, é uma característica controlada geneticamente que pode ser selecionada sem a necessidade de se sacrificar o rendimento de grãos, e é essencial para entender as lacunas existentes entre a produtividade atual e a potencial. O conceito do *SI* incorpora a tolerância a diversos estresses bióticos e abióticos, incluindo o estresse a altas densidades de semeadura. Os genótipos que apresentam uma melhor homeostase são mais eficientes quanto à exploração dos recursos ambientais e têm uma melhor resposta a condições limitadas de fertilidade do solo (FASOULA, 2012).

O produto dos componentes *PYI* e *SI* resulta na equação de prognóstico de planta (*pPE*):

$$pPE = (x/\bar{x}_r)^2 (\bar{x}_g/s)^2,$$

que mede o potencial produtivo de plantas individuais e assegura a eficiência da seleção das plantas “campeãs”.

A estimativa de forma confiável do *PYI*, *SI*, e *pPE* é assegurada pela unidade de replicação em blocos completos (*MCB – replicated moving complete block*) obtida através da metodologia HSD (FASOULAS; FASOULA, 1995) (Figura 2.4).



Fonte: FASOULA, 2012.

**Figura 2.4** – Modelo de seleção em ultrabaixa densidade *Honeycomb Selection Designs* R-31, avaliando 31 entradas. A “grade móvel” (*moving grid*), em vermelho, e a “unidade móvel de repetição” (*moving replicate*), em cinza, são ilustradas para as plantas da Linhagem 4.

\*As plantas estão arranjadas em linhas horizontais em ordem crescente e a numeração é repetida regularmente. O número inicial é diferente em cada linha, uma propriedade essencial para a formação das repetições. Este arranjo único permite o uso do Índice de Rendimento por Planta Individual (*PYI*) para expressar os rendimentos individuais como uma razão de um denominador comum, ou seja, a média da repetição completa, removendo os efeitos de heterogeneidade do solo nas plantas individuais. As plantas são objetivamente ranqueadas de acordo com a sua capacidade produtiva evitando o viés de uma avaliação visual, comumente conhecida como o “olho do melhorista”. O arranjo e o, praticamente ilimitado, número de repetições (>30), proporcionados pelo modelo *Honeycomb Selection Designs*, oferecem estimativas imparciais e precisas dos componentes do potencial produtivo da cultura.

A equação *pPE* apresenta diversas vantagens como a eliminação dos efeitos de competição intraespecífica; a mensuração, com alta precisão e acurácia, do potencial produtivo por planta individual e da estabilidade da performance; a possibilidade da utilização da alta pressão de seleção (entre 0,5 e 1,0%) sem sacrificar a acurácia da seleção; a

possibilidade de se selecionar, numa mesma geração, plantas com alto potencial produtivo sendo, ao mesmo tempo, estáveis; o aumento do ganho genético anual; a produção de plantas de “densidade neutra”; o aumento da efetividade do melhoramento genético molecular, por possibilitar a classificação, de forma acurada, de um número ilimitado de plantas quanto à produtividade; e a possibilidade de correlacionar o fenótipo com o genótipo, devido à seleção de uma planta única (FASOULA, 2012).

O modelo HSD tem-se mostrado eficiente quando utilizado na avaliação de variedades crioulas ou cultivares a serem comercializadas. Este fato foi comprovado por Tokatlidis et al. (2010), avaliando duas variedades crioulas de feijão no Modelo HSD, quanto ao estresse de temperatura; os autores verificaram um aumento de 38% na produtividade de grãos. Este método também contribuiu para um aumento na produtividade de genótipos de *Panicum virgatum* em 19 a 27% (MISSAOUI; FASOULA; BOUTON, 2005) e na produção de biomassa de populações de *Dactylis glomerata* e *Agropyron cristatum* em 103% e 140%, respectivamente (ABRAHAM; FASOULAS, 2001).

Greveniotis et al. (2009), avaliando o desempenho de variedades gregas de cevada em vários ambientes, verificaram que a metodologia possibilitou uma avaliação mais confiável permitindo, a partir dos resultados, recomendar variedades conforme as performances de rendimento e resistência à estresses e a resposta à tecnologia utilizada. De acordo com os autores, a metodologia HSD também aumentou a eficiência do melhoramento assistido por marcadores moleculares (MAS), pois possibilitou a classificação de um número ilimitado de plantas para potencial de rendimento.

Lungu, Kaltsikes e Larter (1987), avaliando duas progênies de trigo (*Triticum aestivum* L.) oriundas de cruzamentos, verificaram que o modelo HSD pôde ser utilizado para selecionar plantas nas gerações F<sub>2</sub> e F<sub>3</sub> quanto à produtividade de grãos. Semelhantemente, ROUPAKIAS et al. (1997), observaram que o modelo HSD também foi eficiente na seleção precoce de feijão fava.

Tokatlidis et al. (2004), utilizando o modelo HSD para selecionar linhagens dentro de uma cultivar de trigo (*T. aestivum* L.) quanto à produtividade, conteúdo de proteína e conteúdo de cinzas, verificaram que a seleção para produtividade foi eficiente, tanto em condições de ausência de competição (11.547 plantas ha<sup>-1</sup>), quanto em condições de competição intraespecífica (5.000.000 plantas ha<sup>-1</sup>).

Kulkarni (1991) utilizou o modelo de seleção HSD para selecionar linhagens de *Artemisia palles* quanto à produtividade, conteúdo e qualidade de óleo, e peso de

planta. Foi observado aumento na produtividade sem, contudo, afetar o teor e a qualidade do óleo.

Já em soja, Fasoula e Boerma (2005, 2007), utilizando o modelo HSD com um espaçamento de 0,9 m entre plantas (1,4 plantas m<sup>-2</sup>) (Figura 2.5), e selecionando para conteúdo de óleo e proteína, entre outras características, observaram que as plantas irmãs individuais obtiveram teores diferentes aos das cultivares originais, sendo que algumas superaram estes teores, sugerindo que as cultivares não são registros permanentes com variação inexistente, mas sim materiais genéticos que podem ser melhorados.

Semelhantemente, 12 linhagens de soja, de um total de 17, pertencentes à cultivar *Benning*, quando comparadas ao parental feminino, apresentaram produtividade média superior entre 6 e 16%; e 12 linhagens, de um total de 16, da cultivar *Haskell* superaram o parental em 8 a 22%. Por conseguinte, cinco linhagens da cultivar *Benning* e seis da cultivar *Haskell* foram registradas (FASOULA et al., 2007a,c). Sete linhagens selecionadas da cultivar *Cook* que diferiram do parental quanto às características agrônômicas, também foram registradas (FASOULA et al., 2007b).



Fonte: FASOULA, BOERMA, 2005.

**Figura 2.5** – Modelo de seleção em ultrabaixa densidade *Honeycomb Selection Designs* na avaliação de plantas individuais de três cultivares elite de soja (“Benning”, “Cook” e “Haskell”) utilizando espaçamento de 0,9 m entre plantas.

Sabe-se que a unidade de avaliação na metodologia do Modelo HSD é a planta individual enquanto que a unidade de avaliação no MAS é o genoma individual da planta. Portanto, além das diversas vantagens proporcionadas pela metodologia anteriormente citadas, o modelo também possibilita a combinação com sucesso da genotipagem com a

fenotipagem, assim como um melhor entendimento sobre as lacunas existentes entre o genótipo e o fenótipo (ROTH et al., 1989; YATES; BOERMA; FASOULA, 2012).

A redução destas lacunas e o aprimoramento da efetividade de seleção na ausência de competição estabelece a condição ideal para satisfazer os dois elementos constituintes da equação  $pPE$ , rendimento individual e estabilidade, para a resposta a seleção. Sendo assim, o Modelo HSD enfatiza a influência da competição e tem o potencial de desenvolver cultivares que atendam às demandas da agricultura sustentável. Por neutralizar os efeitos da competição e da heterogeneidade do solo na efetividade da seleção, esta metodologia tem o potencial de explorar até mesmo áreas marginais. De acordo com Fasoula e Tokatlidis (2012), o estabelecimento do Modelo HSD como um processo contínuo, com o objetivo de lidar com as mudanças climáticas e desenvolver cultivares puras adaptadas e com altas produtividades, pode agregar valor à economia rural, diminuindo a pobreza e trazendo benefícios aos produtores rurais.

## 2.7 REFERÊNCIAS

- ABIOVE - Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais. Informativo digital sobre temas da cadeia produtiva da soja. 2016. Disponível em: <[http://www.abiove.org.br/site/\\_FILES/Portugues/15032016-134859-15\\_03\\_2016\\_-\\_informativo\\_143\\_-\\_estatisticas\\_-projecao-1.pdf](http://www.abiove.org.br/site/_FILES/Portugues/15032016-134859-15_03_2016_-_informativo_143_-_estatisticas_-projecao-1.pdf)>. Acesso em 16 mar. 2016.
- ABRAHAM, E.M.; FASOULAS, A.C. Comparative efficiency of three selection methods in *Dactylis glomerata* L. and *Agropyron cristatum* L. **Journal of Agricultural Science**, v. 137, p. 173–178, 2001.
- ALLIPRANDINI, L. F.; TOLEDO, J. F. F.; FONSECA JUNIOR, N. S.; KIIHL, R. A. S. Ganho genético em soja no Estado do Paraná, via melhoramento no período de 1985/86 a 1989/90. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 489-497, 1993.
- ALMEIDA, L. A.; KIIHL, R. A. S.; MIRANDA, M. A. C.; CAMPELO, G. J. A. Melhoramento da soja para regiões de baixas latitudes. In: QUEIROZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o nordeste brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido/ Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999.
- AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY – AOCS. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society**. 5.ed. Champaign, IL: AOCS, v. 1, 1997.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (Arlington, Estados Unidos). **Official methods of analysis**. Washington, DC, 1975. 1094p.
- AXELROD, V.; CHEESBROUGH, T. M.; LAASKO, S. Lipoxigenase from soybeans. **Methods in Enzymology**, v. 71, p. 441-451, 1981.
- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação Agrícola**. 4.ed. FUNEP: Jaboticabal, 2015. 237p.
- BARTEL, D.P. MicroRNAs. **Cell**, v. 116, p. 281–297, 2004.
- BATZIOS, D. P.; ROUPAKIAS, D. G.; KECHAGIA; U.; GALANOPOULOU-SENDOUCA, S. Comparative efficiency of honeycomb and conventional pedigree methods of selection for yield and fiber quality in cotton (*Gossypium* spp.). **Euphytica**, v. 50, p. 57-62, 2001.
- BHANDARI, H. S.; FASOULA, V. A.; BOUTON, J. H. Space-plant versus sward-plot evaluation of half-sib families to select parents for synthetic cultivars with superior biomass yield in lowland switchgrass. **Crop Science**, v. 53, p. 442-451, 2013.

- BHANDARI, H. S.; FASOULA, V. A.; BOUTON, J. H. Space-plant versus sward-plot evaluation of half-sib families to select parents for synthetic cultivars with superior biomass yield in lowland switchgrass. **Crop Science**, v. 53, p. 442-451, 2013.
- BOGENSCHUTZ, T.G., RUSSELL, W. A. An evaluation for genetic variation within maize inbred lines maintained by sibmating and self-pollination. **Euphytica**, v. 35, p. 403–412, 1986.
- BOLON, Y-T.; JOSEPH, B.; CANNON, S. B.; GRAHAM, M. A.; DIERS, B. W.; FARMER, A. D.; MAY, G. D.; MUEHLBAUER, G. J.; SPECHT, J. E.; TU, Z. J.; WEEKS, N.; XU, W. W.; SHOEMAKER, R. C.; VANCE, C. P. Complementary genetic and genomic approaches help characterize the linkage group I seed protein QTL in soybean. **BMC Plant Biology**, v. 10, p. 41-64, 2010.
- BORST, P.; GREAVES, D.R. Programmed gene rearrangements altering gene expression. **Science**, v. 235, n. 4789, p. 658-667, 1987.
- BYTH, D. H.; WEBER, C. R. Effects of genetic heterogeneity within two soybean populations I. Variability within environments and stability across environments, **Crop Science**, v. 8, p. 44-47, 1968.
- CARPENTIERI-PIPOLO, V. UEL 175: a novel lipoxygenase-free soybean cultivar with kunitz trypsin inhibitor absence. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 15, p. 191-192, 2015.
- CASSIDY, A.; HANLEY, B.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Isoflavones, lignans and stilbenes – origins, metabolism and potential importance to human health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 1044-1062, 2000.
- CHEN, P., Developing high quality identity-preserved soybean for the specialty soyfood market. In: **Production and Marketing of Identity-Preserved Soybean**, Saint Louis: American Soybean Association, 2004, p. 23-31.
- CHINNUSAMY, V.; ZHU, J.K. Epigenetic regulation of stress responses in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, p. 133–139, 2009.
- CHUNG, J.; BABKA, H. L.; GRAEF, G. L.; STASWICK, P. E.; LEE, G. J.; CREGAND, P. B.; SHOEMAKER, R. C.; SPECHT, J. E. The seed protein, oil, and yield QTL on soybean linkage group I. **Crop Science**, v. 43, p. 1053–1067, 2003.
- CLEMENTE, T. E.; CAHOON, E. B. Soybean oil: genetic approaches for modification of functionality and total content. **Plant Physiology**, v. 151, p. 1030-1040, 2009.

- COBER, E.R.; VOLDENG, H.D. Developing high-protein, high-yield soybean population and lines. **Crop Science**, v. 40, p. 39-42, 2000.
- CONAB. **A produtividade da soja: análise e perspectivas**. Conab, v. 10, p. 1-34, 2017.
- CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira grãos**. Safra 2017/2018 – Nono levantamento, v. 5, n. 9, p. 1-176, 2018.
- CULLIS, C.A. DNA rearrangements in response to environmental stress. **Advances in Genetics**, v. 28, p. 73–97, 1990.
- CULLIS, C.A. Mechanisms and control of rapid genomic change in flax. **Annals of Botany**, v. 95, p. 201–206, 2005.
- DALL'AGNOL, A. **A Embrapa Soja no Contexto do Desenvolvimento da Soja no Brasil: Histórico e Contribuições**. 1 ed. Brasília: EMBRAPA, 2016. 72p.
- DAVIES, C. S.; NIELSEN, N. C. Registration of Soybean Germplasm that Lacks Lipoxygenase Isozymes. **Crop Science**, v. 27, p. 370-371, 1987.
- DEMIRBAS, A. Biofuels sources, biofuel policy, biofuel economy and global biofuel projections. **Energy Conversion and Management**, v.49, p. 2106–2116, 2008.
- DEMIRBAS, A. Progress and recent trends in biofuels. **Science**, v. 33, p. 1–18, 2007.
- DESTRO, D.; MONTALVÁN, R. **Melhoramento genético de plantas**. Londrina: Ed. UEL, 1999. 820 p.
- DIERS, B. W.; KEIM, P.; FEHR, W. R.; SHOEMAKER, R.C. RFLP analysis of soybean seed protein and oil content. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 83 p. 608-612, 1992.
- DOMAGALSKI, J. M., KOLLIPARA, K. P., BATES, A. H., BRANDON, D.L., FRIEDMAN, M., HYMOWITZ, T. Nulls for the major soybean Bowman-Birk protease inhibitor in the genus Glycine. **CropScience**, v. 32, p. 1502- 1505, 1992.
- DUDLEY, J. W.; LAMBERT, R. J. 100 generation of selection for oil and protein in corn. In: JANICK, J. **Plant Breeding Reviews**. Hoboken: Wiley, 2004. p. 79-110.
- DWIVEDI, D.; AGARWAL, A. K.; SHARMA, M. Particulate emission characterization of a biodiesel vs diesel-fuelled compression ignition transport engine: A comparative study. **Atmospheric Environment**, v. 40, p. 5586–5595, 2006.
- EMBRAPA SOJA. **Portifólio Embrapa de cultivares de soja**, 2016. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/soja/>>. Acesso em: 16 ago 2016.
- EMBRAPA SOJA. **Portifólio Embrapa de cultivares de soja**, 2016. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/soja/>>. Acesso em: 16 ago 2016.

- EMBRAPA SOJA. **Tecnologias de produção de soja** – Região Central do Brasil 2014. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 265p. (Embrapa Soja, Sistemas de Produção, 16).
- EMBRAPA, 2011. **Tecnologias de produção de soja** - Região Central do Brasil 2012 e 2013. Disponível em <<http://www.cnpso.embrapa.br/download/SP15-VE.pdf>>. Acesso em 25 abr. 2016.
- EVANS, L. T. The natural history of crop yield. **American Scientist**, v. 68, p. 388–397, 1980.
- FASOULA A. C. **The honeycomb methodology of plant breeding**. Thessaloniki 17: Aristotle Univ. of Thessaloniki, 1988.
- FASOULA V. A. Two novel whole-plant field phenotyping equations maximize selection efficiency. In: PROHENS, J.; BADENES, M.L. Modern variety breeding for present and future needs. PROCEEDINGS OF THE 18TH EUCARPIA GENERAL CONGRESS, 2008, Valencia. **Anais...** Valencia, 2008, p. 361–365.
- FASOULA, A. C. **Principles and methods of plant breeding**. 11. ed. Thessaloniki: Aristotle Univ. of Thessaloniki, 1981. 148 p.
- FASOULA, A. C. **Principles of crop breeding**. Thessaloniki: Aristotle Univ. of Thessaloniki, 1993. 128 p.
- FASOULA, D. A. Correlations between auto-, allo- and nilcompetition and their implications in plant breeding. **Euphytica**, v. 50, p. 57–62, 1990.
- FASOULA, D. A. Nonstop selection for high and stable crop yield by two prognostic equations to reduce yield losses. **Agriculture**, v. 2, p. 211-227, 2012.
- FASOULA, D. A.; FASOULA, V. A. Competitive ability and plant breeding. **Plant Breeding Reviews**, v. 14, p. 89–138, 1997.
- FASOULA, V. A. Prognostic breeding: A new paradigm for crop improvement. **Plant Breeding Reviews**, v. 37, p. 297-347, 2013.
- FASOULA, V. A. Selection of high yielding plants belonging to entries of high homeostasis maximizes efficiency in maize breeding. In: XXI INTERNATIONAL CONFERENCE IN MAIZE AND SORGUM BREEDING IN THE GENOMICS ERA, 2009, Bergamo. **Anais...** Bergamo, 2009, p. 28.
- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R. Divergent selection at ultra-low plant density for seed protein and oil content within soybean cultivars. **Field Crops Research**, v. 91, p. 217–229, 2005.

- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R. Intra-cultivar variation for seed weight and other agronomic traits within three elite soybean cultivars. **Crop Science**, v. 47, p. 367–373, 2007.
- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R.; YATES, J. L.; WALKER, D. R.; FINNERTY, S. L.; ROWAN, G. B.; WOOD, E. D. Registration of five soybean germplasm lines selected within the cultivar ‘Benning’ differing in seed and agronomic traits. **Journal of Plant Registrations**, v. 1, p. 156-157, 2007a.
- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R.; YATES, J. L.; WALKER, D. R.; FINNERTY, S. L.; ROWAN, G. B.; WOOD, E. D. Registration of seven soybean germplasm lines selected within the cultivar ‘Cook’ differing in seed and agronomic traits. **Journal of Plant Registrations**, v. 1, p. 158-159, 2007b.
- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R.; YATES, J. L.; WALKER, D. R.; FINNERTY, S. L.; ROWAN, G. B.; WOOD, E. D. Registration of six soybean germplasm lines selected within the cultivar ‘Haskell’ differing in seed and agronomic traits. **Journal of Plant Registrations**, v. 1, p. 160-161, 2007c.
- FASOULA, V. A.; FASOULA, D. A. Honeycomb breeding: principles and applications. **Plant breeding Reviews.**, v. 18, p. 177–250, 2000.
- FASOULA, V. A.; FASOULA, D. A. Principles underlying genetic improvement for high and stable crop yield potential. **Field Crops Research**, v. 75, p. 191-209, 2002.
- FASOULA, V.; TOKATLIDIS, I. Development of crop cultivars by honeycomb breeding. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 32, p. 161-180, 2012.
- FASOULAS, A.C.; FASOULA, V. A. Honeycomb selection designs. **Plant Breed Rev.**, v. 13, p. 87–139, 1995.
- FEHR, W.R. Breeding for modified fatty acid composition in soybean. **Crop Science**, v. 47, n. S3, p. S72-S87, 2007.
- FLEMING, A.A., KOZELNICKY, G.M.; BROWNE, E.B. Variations between stocks within long-time inbred lines of maize (*Zea Mays* L.). **Crop Science**, v. 4, p. 291–295, 1964.
- FRIEDMAN, M.; BRANDON, D. L. Nutritional and health benefits of soy proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 3, p.1069-1086, 2001.
- GANDHI, A. P. Quality of soybean and its food products. **International Food Research Journal**, n. 16, v. 11-19, 2009.
- GORDON, I. L.; BYTH, D. E. Comparisons among strains of the tobacco cultivar Hicks illustrating variability within a single cultivar. **Journal of Agriculture and Animal Science**, v. 29, p. 255-264, 1972.

- GREVENIOTIS, V.; FASOULA, V. A. Application of prognostic breeding in maize. **Crop & Pasture Science**, v. 67, p. 605-620, 2016.
- GREVENIOTIS, V.; XANTHOPOULOU, O., PESSIOS, E.; DELIGEORGIDIS, P.; STEFANIS, D.; IPSILANDIS, C.G. honeycomb evaluation of barley germplasm under pre-evaluated environments. **Cereal Research Communications**, v. 37, n. 4, p. 567–574, 2009.
- GRIESHOP, C. M.; FAHEY, JR. G. C. Comparison of Quality Characteristics of Soybeans from Brazil, China, and the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 2669-2673, 2001.
- HAJIKA M., IGITA K., KITAMURA K. A line lacking all three seed lipoxygenase isozymes in soybean induced by gamma-ray irradiation. **Japanese Journal of Breeding**, v. 41, p. 507-509, 1991.
- HARTWIG, E.E.; HINSON, K. Association between chemical composition of seed and seed yield of soybeans. **Crop Science**, v. 12, p. 829-830, 1972.
- HAUN, W. J., HYTEN, D. L., XU, W. W., GERHARDT, D. J., ALBERT, T. J., RICHMOND, T., JEDDELOH, J. A., JIA, G., SPRINGER, N. M., VANCE, C. P. et al. The composition and origins of genomic variation among individuals of the soybean reference cultivar Williams 82. **Plant Physiology**, v. 155, p. 645-655, 2011.
- HYMOWITZ, T.; HARLAN, J. R. The introduction of the soybean to North America by Samuel Bowen in 1765. **Economic Botany**, v. 37, p. 371-379. 1983.
- HYMOWITZ, T.; NEWELL, C. A. Taxonomy of the genus *Glycine*, domestication and uses of soybeans. **Economic Botany**, v. 35, p. 272-278, 1981.
- HYTEN, D. L.; PANTALONE, V. R.; SAMS, C. E.; SAXTON, A. M.; LANDAU-ELLIS, D.; STEFANIAK, T. R.; SCHMIDT, M. E. Seed quality QTL in a prominent soybean population. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 109, p. 552–561, 2004.
- JOFUKU, K. D.; GOLDBERG, R. B. Kunitz Trypsin Inhibitor Genes Are Differentially Expressed during the Soybean Life Cycle and in The Transformed Tobacco Plants. **Plant Cell**, v. 1, p. 1079-1093, 1989.
- KASTER, M.; FARIAS, J. R. B. **Regionalização dos testes de Valor de Cultivo e Uso e da indicação de cultivares de soja – Terceira Aproximação**. Documentos/ Embrapa Soja, n.330, Londrina: Embrapa Soja, 2012, 69 p.
- KELLY, A.F. **Seed production of agricultural crops**. Longman group UK limited, London. 1988.

- KIDWELL, M.G.; LISCH, D. Transposable elements as sources o genomic variation. In: CRAIG, N.L.; CRAIGIE, R.; GELLERT, M. LAMBOWITZ, A.M. **Mobile DNA II**. American Society for Microbiology Press, Washington, DC. 2002. p. 59–90.
- KIM, S. H.; HARA, S.; HASE, S.; IKENAMA, T.; TODA, H.; KATAMURA, K.; KAIZUMAMA, N. Comparative study in amino acid sequences of Kunitz type soybean trypsin inhibitors, T1a, T1b and T1c. **Biochemics**, v. 98, p. 435-448, 1985.
- KINNEY, A. J. Engineering soybeans for food and healthy. **AgBioForum**, v. 6, p. 18-22, 2003.
- KITAMURA, K.; DAVIES, C.S.; KAIZUMA, N.; NIELSEN, N. C. Genetic analysis of a null-allele for lipoxygenase-3 in soybean seeds. **Crop Science**, v. 23, p. 924-927, 1983.
- KOTZAMANIDIS, S. T.; LITHOURGIDIS, A. S.; ROUPAKIAS, D. G. Short communication. Plant density effect on the individual plant to plant yield variability expressed as coefficient of variation in barley. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 7, n. 3, p. 607-610, 2009.
- KRISHNAN, H. B. Characterization of a soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] mutant with reduced levels of Kunitz trypsin inhibitor. **Plant Science**, v. 160, p. 979–986, 2001.
- KULKARNI, R. N. Three cycles of honeycomb selection for herb yield in davana (*Artemisiapallens* Wall.). **Euphytica**, v. 52, p. 99-102, 1991.
- KYRIAKOU, D. T.; FASOULAS, A. C. Effects of competition and selection pressure on yield response in winter rye (*Secale cereale* L.). **Euphytica**, v. 34, p. 833–895, 1985.
- LANZA, M. A. **Marcadores moleculares RAPD na introgressão de genes para ausência de lipoxigenases e da proteína A5A4B3 em soja (*Glycine max* (L.) Merrill)** 1995. 57 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1995.
- LARKIN, P.J.; SCOWCROFT, W.R. **Somaclonal Variation and Crop Improvement. Genetic Engineering of Plants: An Agricultural Perspective**. p. 289-314, 1983.
- LAVERACK, G. K. Management of breeders seed production. **Seed Science and Technology**, v. 22, p. 551–563, 1994.
- LAVERACK, G.K. Management of breeders seed production. **Seed Science Technology**, 22:551–563, 1994.
- LEITE, P.R.S.C.; MENDES, F.R.; PEREIRA, M.L.R.; LACERDA, M.J.R. Limitações da utilização da soja integral e farelo de soja na nutrição de frangos de corte. **EnciclopédiaBiosfera**, v. 8, n. 15, p. 1138-1157, 2012.

- LI, Y.; REIF, J.C.; HONG, H.; LI, H.; LIU, Z.; MA, Y.; LI, J.; TIAN, Y.; LI, Y.; LI, W.; QIU, L. Genome-wide association mapping of QTL underlying seed oil and protein contents of a diverse panel of soybean accessions. **Plant Science**, v. 266, p. 95–101, 2018.
- LIENER, I. E. Implications of antinutritional components in soybeans foods. **CRC Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 34, n. 1, p.31-67, 1994.
- LISTER, R.; O'MALLEY, R.C.; TONTI-FILIPPINI, J.; GREGORY, B.D.; BERRY, C.C.; MILLAR, A.H.; ECKER, J.R. Highly integrated single-base resolution maps of the epigenome in *Arabidopsis*. **Cell**, 133:523–536, 2008.
- LIU, C.F.; PAN, T.M. Beneficial Effects of bioactive peptides derived from soybean on human health and their production by genetic engineering. In: EL-SHEMY, H. **Soybean and health**. China: Intech, 2011. p. 311-328.
- LOLLE, S.; VICTOR, J.L.; YOUNG, J.M.; PRUITT, R.E. Genomewide non-mendelian inheritance of extra-genomic information in *Arabidopsis*. **Nature**, v. 434, p. 505–509, 2005.
- LUNGU, D. M.; KALTSIKES, P. J.; LARTER, E. N. Honeycomb selection for yield in early generations of spring wheat. **Euphytica**, v. 36, p. 831-839, 1987.
- LUNGU, D. M.; KALTSIKES, P. J.; LARTER, E. N. Honeycomb selection for yield in early generations of spring wheat. **Euphytica**, v. 36, p. 831-839, 1987.
- MAJOR, I. T.; CONSTABEL, C. P. Funcional analysis of the Kunitz trypsin Inhibitor family in Poplar reveals biochemical diversity and multiplicity in defenses against herbivores. **Plant Physiology**, v. 146, p. 888-903, 2008.
- MALIK, M.F.A.; ASHRAF, M.; QURESHI, A.S.; GHAFOOR, A. Assessment of genetic variability, correlation and path analyses for yield and its components in soybean. **Pakistan Journal of Botany**, v. 39, n. 2, p. 405-413, 2007.
- MANDARINO, J. M. G. Composto Antinutricionais da soja: Caracterização e Propriedades Funcionais. In: **Alimentos Funcionais Benefícios a saúde**. 2008. 228p.
- MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Projeções do Agronegócio: Brasil 2014/15 a 2024/25 – Projeções de Longo Prazo**. 6ª ed. Brasília: MAPA, 2015, 132 p.
- MCCLINTOCK, B. The origin and behavior of mutable loci in maize. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States**, v. 36, p. 344–355, 1950.
- MCCLINTOCK, B. The significance of responses of the genome to challenge. **Science**, v. 226, p. 792-801, 1984.

- MENEGUCE, B. et al. Interação genótipo x ano para tempo de cozimento e sua correlação com a massa e percentagem de embebição em soja tipo alimento. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 4, p. 463-476, 2005.
- MESSINA, M.; GARDNER C.; BARNES, S. Gaining insight into the health effects of soy but a long way still to go. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 547S-551S, 2002.
- MEZZALIRA, I. **Ganho genético para produtividade de grãos de soja na região central do Brasil**. 2017. 44 f. Dissertação (Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.
- MISSAOUI, A. M.; FASOULA, V. A.; BOUTON, J. H. The effect of low plant density on response to selection for biomass production in switchgrass. **Euphytica**, , v. 142, n. 1, p. 1–12, 2005.
- MIURA, E. M.Y.; BINOTTI, M. A. R.; CAMARGO, D. S.; MIZUBUTI I.Y.; IDA, E. I. Avaliação biológica de soja com baixas atividades de inibidores de tripsina e ausência do inibidor Kunitz. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 51, n. 2, p. 1-8, 2001.
- MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. **A soja no Brasil**. 1ª ed. São Paulo: ITAL, 1981, 1062 p.
- MORAES, R.M.A. de; JOSÉ, I.C.; RAMOS, G.F.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Caracterização bioquímica de linhagens de soja com alto teor de proteína. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 5, p. 715-729, 2006.
- MORGANTE, M.; BRUNNER, S.; PEA, G. ; FENGLER, K.; ZUCCOLO, A.; RAFALSKI, A. Gene duplication and exon shuffling by helitron-like transposons generate intraspecies diversity in maize. **Nature Genetics**, v. 37, p. 997–1002, 2005.
- NATARAJAN, S., XU, C., BAE, H., BAILEY, B. A. Proteomic characterization of Kunitz trypsin inhibitors in wild and cultivated soybean genotypes. **Plant Physiology**, v. 164, p. 756-763, 2006.
- NINO, E.G.; MYLONAS, I.G.; TSIVELIKAS, A.; RALLI, P.; DORDAS, C.; TOKATLIDIS, I.S. Wheat landraces are better qualified as potential gene pools at ultraspaced rather than densely grown conditions. **Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1-5, 2014.
- ORF, J. H.; HYMOWITZ, T. Inheritance of Absence of Kunitz Trypsin Inhibitor in Seed Protein of Soybeans. **Crop Science**, v.19, p.107-109, 1979.
- OSSOWSKI, S., SCHNEEBERGER, K.; LUCAS-LLEDÓ, J.I.; WARTHMAN, N.; CLARK, R.M.; SHAW, R.G.; WEIGEL, D.; LYNCH, M. The rate and molecular spectrum of spontaneous mutations in *Arabidopsis thaliana*. **Science**, v. 327, p. 92–94, 2010.

- PAGLIOSA, E. S. **Ganho genético em soja na região meridional do Brasil**. 2016. 121 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.
- PAN, X.Y.; WANG, G.X.; YANG, H.M.; WEI, X.P. Effect of water deficits on within-plot variability in growth and grain yield of spring wheat in northwest China. **Field Crops Research**, v. 80, p. 195–205, 2003.
- PARLEVLIET, J E. How to maintain improved cultivars. **Euphytica**, v. 153, p. 353–362, 2007.
- PARLEVLIET, J.E. How to maintain improved cultivars. **Euphytica**, v. 153, p. 353-362, 2007.
- PETERSON, P.A. Longevity of active transposons in corn breeding populations. **Maydica**, v. 53, p. 173–180, 2008.
- PÍPOLO, A. E.; ARIAS, C. A. A.; CARNEIRO, G. E. S.; TOLEDO, J. F. F. Desenvolvimento de germoplasma e cultivares de soja. **Circular Técnica 52**, EMBRAPA, Londrina, p. 1-10, 2007.
- PÍPOLO, A. E.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; DEBIASI, H.; MANDARINO, J. M. G. **Teores de óleo e proteína em soja: fatores envolvidos e qualidade para a indústria**. Londrina: Embrapa Soja, 2015. 15 p. (Embrapa Soja. Comunicado técnico, 86)
- PRIMOMO, V.S.; FALK, D.E.; ABLETT, G.R.; TANNER, J.W.; RAJCAN, I. Genotype × environment interactions, stability, and agronomic performance of soybean with altered fatty acid profiles. **Crop Science**. v. 42, n. 1, p. 37-44. 2002.
- R CORE TEAM (2016). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- RAMTEKE, R.; KUMAR, V.; MURLIDHARAN, P.; AGARWAL, D.K. Study on genetic variability and traits interrelationship among released soybean varieties of India [Glycine max (L.) Merrill]. **Electronic Journal of Plant Breeding**, v. 1, n. 6; p. 1483-1487, 2010.
- RASMUSSEN, D. C.; PHILLIPS, R. L. Plant breeding progress and genetic diversity from de novo variation and elevated epistasis. **Crop Science**, v.37, p.303-310, 1997.
- ROUPAKIAS, D.; ZESOPOULOU, A.; KAZOLEA, S.; DALKALITSES, G.; MAVROMATIS A.; LAZARIDOU, T. Effectiveness of early generation selection under two plant densities in faba bean (*Vicia faba* L.). **Euphytica**, v. 93, p. 63–70, 1997.

- ROUPAKIAS, D.; ZESOPOULOU, A.; KAZOLEA, S.; DALKALITSES, G.; MAVROMATIS A.; LAZARIDOU, T. Effectiveness of early generation selection under two plant densities in faba bean (*Vicia faba* L.). **Euphytica**, v. 93, p. 63–70, 1997.
- RUBIN, S. A. L.; SANTOS, O. S. Progresso do melhoramento genético de soja no estado do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 2, p. 139-147, 1996.
- RUSSELL, W. A.; VEGA. U.A. Genetic stability of quantitative characters in successive generations in maize inbred lines. **Euphytica**, v. 22, p. 172–180, 1973.
- SEDGLEY, R.H. An appraisal of the Donald ideotype after 21 years. **Field Crops Research**, v. 26, p. 93–11, 1991.
- SEDIYAMA, C. S.; QUEIROZ, L. R.; MOREIRA, M. A.; REZENDE, S. T. Aldehyde production and physiological quality of soybean seeds lacking lipoxygenase isozymes. In: **WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE**. Kasetsart University Press, p. 441-446, 1998.
- SEDIYAMA, T. **Tecnologias de produção e usos da soja**. Londrina: Mecenaz, 2009. 314 p.
- SHAW, R. G., BYERS, D. L. DARMO, E. Spontaneous mutational effects on reproductive traits of *Arabidopsis thaliana*. **Genetics**, v. 155, p. 369–378, 2000.
- SHI, A; CHEN, P.; ZHANG, B.; HOU, A. Genetic diversity and association analysis of protein and oil content in food-grade soybeans from Asia and the United States. **Plant Breeding**, v. 129, p. 205-256, 2010.
- SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. Antinutricional factors: Protease inhibitors and lectins. **Revista de Nutrição**, v. 13, n. 1, p. 3-9, 2000.
- SILVA, M.S.; NAVES, M.M.V.; OLIVEIRA, R.B.; LEITE, O.S.M. Composição química e valor protéico do resíduo de soja em relação ao grão de soja. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 26, n. 3, p 571-576, 2006.
- SIMAS, R.C. **Determinação de proteína bruta e aminoácidos em farelo de soja por espectroscopia no infravermelho próximo**. 2005. 119 p. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- SINAPIDOU, E., TOKATLIDIS, I.S. Genetic mechanisms enhancing plant biodiversity. In: Lichtfouse, E. Genetics, biofuels and local farming system. **Sustainable Agriculture Reviews**, v. 7, p. 51–86, 2011.
- SLOTKIN, R.K.; MARTIENSSEN, R. Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome. **Nature Reviews Genetics**, v. 8, p. 272–285, 2007.

- SPRAGUE, G. F.; RUSSEL, W. A.; PENNY, L. H. Mutations affecting quantitative traits in selfed progeny of double monoploid maize stocks. **Genetics**, v. 45, p. 855-865, 1960.
- SPRINGER, N.M., STUPAR, R.M. Allelic variation and heterosis in maize: How do two halves make more than a whole? **Genome Research**, v. 17, p. 264–275, 2007.
- STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H.; DICKEY, D. A. **Principles and procedures of statistics, a biometrical approach**. 3 ed. New York: McGrawHill Book, 1997.
- STOBAUGH, B.; FLOREZ-PALACIOS, L.; CHEN, P.; ORAZALY, M. Agronomic evaluation of high-protein and high-oil soybean genotypes for specialty markets. **Journal of Crop Improvement**, v. 31, n. 2, p. 247-260, 2017.
- STRATILAKIS, S. N.; GOULAS, C. K. Yield performance at three nitrogen rates of a set of honeycomb vs traditional pedigree selected bread wheat varieties. **European Journal of Agronomy**, v. 19, p. 65-76, 2003.
- SUDARIĆ A.; VRATARIĆ, M.; DRINIĆ, S. M.; ZDUNIĆ, Z. Genetic Improvement: Molecular-Based Strategies. In: SUDARIĆ A. **Soybean - Molecular Aspects of Breeding**. Rijeka: InTech, 2011. p. 57-80.
- TAVARES, J. T.; TAVARES, D Q.; MIRANDA, M. A. C. Enzymatic analysis of soya beans lacking lipoxigenases. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 62, n. 02, p. 207-208, 1993.
- THORNE, J.C.; FEHR, W.R. Incorporation of high-protein, exotic germplasm into soybean populations by 2-and3-way crosses. **Crop Science**, v. 10, p. 652-655, 1970.
- TOKATLIDIS I.S.; PAPADOPOULOS, I.I.; BAXEVANOS, D.; KOUTITA, O. Genotype × environment effects on single-plant selection at low density for yield and stability in climbing dry bean populations. **Crop Science**, v. 50, p. 775–783, 2010.
- TOKATLIDIS, I. S. Conservation breeding of elite cultivars. **Crop Science**, v. 55, p. 1-18, 2015.
- TOKATLIDIS, I. S.; TSIKRIKONI, C.; LITHOURGIDIS, A. S.; TSIALTAS, J. T.; TZANTARMAS, C. Intra-cultivar variation in cotton: response to singleplant yield selection at low density. **Journal of Agricultural Science**, v. 149, p. 197–204, 2011.
- TOKATLIDIS, I.S.; TSIALTAS, J.T.; XYNIAS, I.N.; TAMOUTSIDIS, E.; IRAKLI, M. Variation within a bread wheat cultivar for grain yield, protein content, carbon isotope discrimination and ash content. **Field Crops Research**., v. 86, p. 33–42, 2004.

- TOLEDO, J. F. F.; ALMEIDA, L. A.; KIIHL, R. A. S.; MENOSSO, M. G. Ganho genético em soja no Estado do Paraná, via melhoramento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 25, p. 89-94, 1990.
- TSAFTARIS, A. S., AND KAFKA, M. Mechanisms of heterosis in crop plants. **Journal of Crop Production**, v. 1, p. 95–111, 1998.
- TSAFTARIS, A.S.; POLIDOROS, A.N.; KAPAZOGLU, A.; TANI, E. KOVACEVIC, N.M. Epigenetics and Plant Breeding. **Plant Breeding Reviews**, v. 30, p. 49–176, 2008.
- USDA – Unites States Department of Agriculture. World agricultural supply and demand estimates. 2016. Disponível em: < <http://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/latest.pdf>>. Acesso em 16 mar. 2016.
- VASCONCELOS, I. M.; MAIA, A. A. B.; SIEBRA, E.A.; OLIVEIRA, J. T. A.; CARVALHO, A. F. F. U.; MELO, V. M. M.; CARLINI, C.R.; CASTELAR, L. I. M. Nutritional study of two Brazilian soybean (*Glycine max*) cultivars differing in the contents of antinutritional and toxic proteins. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 12, p. 55-62, 2001.
- VELLO, N. A.; FEHR, W. R.; BAHRENFUS, J. B. Genetic variability and agronomic performance of soybean populations developed from plant introductions. **Crop Science**, v. 24, p. 511-514, 1984.
- VODKIN, L.O.; RHODES, P.R.; GOLDBERG, R.B. Ca lectin gene insertion has the structural features of a transposable element. **Cell Press**, v. 34, n. 3, p. 1023-1031, 1983.
- WALBOT, V.; CULLIS, C.A. Rapid genomic change in higher plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 36, p. 367–396. 1985.
- WANG, K. J.; TAKAHATA, Y.; KONO, Y.; KAIZUMA, N. Alelic diferenciación of Kunitz trypsin inhibitor in wild soybean (*Glycine soja*). *Theoretical and Applied Genetics*, v. 117, p. 565-573, 2008.
- WANG, W. H.; TAKANO, T.; SHIBATA, D; KITAMURA, K.; TAKEDA, G. Molecular basis of a null mutation in soybean lipoxygenase 2: substitution of glutamine for an ironligand histidine. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 91, p. 5828-5832, 1994.
- WILCOX, J.R. Increasing seed protein in soybean with eight cycles of recurrent selection. **Crop Science**, v. 38, p. 1536-1540, 1998.
- WILCOX, J.R.; CAVINS, J.R. Backcrossing high seed protein to a soybean cultivar. **Crop Science**, v. 35, p. 1036-1041, 1995.

- WOLF, W. J. **Chemistry and technology of soybeans**. 1976. Disponível em: <<http://handle.nal.usda.gov/10113/32076>>. Acesso em: 14 mar. 2016.
- WU, T.; YANG, X.; SUN, S.; WANG, C.; WANG, Y.; JIA, H.; MAN, W.; FU, L.; SONG, W.; WU, C.; YAN, H.; JIANG, B.; HOU, W.; REN, G.; HAN, T. Temporal–Spatial Characterization of Seed Proteins and Oil in Widely Grown Soybean Cultivars across a Century of Breeding in China. **Crop Breeding & Genetics**, v. 57, n. 2, p. 748-759, 2017.
- YATES, J. L.; BOERMA, R.; FASOULA, V. A. SSR-marker analysis of the intracultivar phenotypic variation discovered within 3 soybean cultivars. **Journal of Heredity**, v.103, n. 4, p. 570–578, 2012.
- ZEVEN, A.C. Did continued separate maintenance breeding of ‘Zephyr’ barley result in sub-cultivars? **Euphytica**, 29:17–19, 1980.
- ZHU, J.K. Epigenome sequencing comes of age. **Cell**, v. 133, p. 395–397, 2008.

### 3 ARTIGO A – SELEÇÃO EM ULTRABAIXA DENSIDADE VISANDO ACESSAR A VARIÇÃO INTRACULTIVAR PARA RENDIMENTO DE GRÃOS EM SOJA

#### RESUMO

A exploração da variação genética intracultivar, embora importante, não tem sido utilizada devido à suposição de que as cultivares elite são altamente homogêneas. Nesse contexto, a metodologia de seleção em ultrabaixa densidade *Honeycomb Selection Designs* (HSD), apresenta-se como um método alternativo capaz de explorar esta variação, proporcionando seleção mais eficiente de genótipos em curto espaço de tempo. Com objetivo de explorar a variação genética intracultivar, o presente estudo apresenta os resultados da aplicação da metodologia HSD por dois anos e avaliação das linhagens selecionadas em rede de experimentação, sob competição. Na safra 2014/15, plantas individuais de duas cultivares de soja foram cultivadas em ultrabaixa densidade (1,0 planta m<sup>2</sup>), em dois locais. Avaliou-se 711 plantas da cultivar BRS 284, sendo 355 em Londrina/PR e 356 em Ponta Grossa/PR. Da cultivar BRS 1001IPRO foram avaliadas 710 plantas, sendo 356 e 354 em Londrina/PR e Ponta Grossa/PR respectivamente. As 20 melhores plantas de cada cultivar foram selecionadas (10 de cada local) com base no Índice de Rendimento de Planta Individual,  $PYI = (x/\bar{x}_r)^2$ , onde o  $x$  corresponde à produtividade de cada planta individual, e o  $\bar{x}_r$  corresponde à média de produtividade de plantas vizinhas. Na safra 2015/16, as plantas selecionadas no ano anterior foram avaliadas novamente na ausência de competição, utilizando o modelo HSD R-21 (20 entradas + cultivar original), com 20 repetições, totalizando 420 plantas por cultivar, por local. Com base na  $pPE = PYI.SI$ , onde  $SI = (\bar{x}_g/s)^2$  é o Índice de Estabilidade, sendo  $\bar{x}_g$  a produtividade média de cada família (plantas originadas da mesma mãe) e  $s$  o desvio padrão de cada família; foram selecionadas cinco linhagens dentro da cultivar BRS 284 e três dentro da cultivar BRS 1001IPRO. Essas linhagens foram então avaliadas sob competição, com população de plantas de 320.000 plantas ha<sup>-1</sup>, em ampla rede de locais, mantendo a cultivar original como padrão. A seleção de plantas individuais em ultrabaixa densidade foi efetiva em identificar variação genética significativa para rendimento de grãos e também para outras características agrônomicas desejáveis, como altura de planta, dias para o florescimento e maturação, acamamento e massa de 1000 sementes, dentro de cultivares de soja consideradas homogêneas, em curto período de tempo. O maior destaque foi a linhagem 284-32-17-3 que apresentou rendimento de grãos 3,8% e 5,7% superior a cultivar BRS 284, nas Macroregiões sojícolas 1 e 3,

respectivamente. As linhagens 284-85-19-4, 284-9-20-5 e 1001-249-8-3 apresentaram bom desempenho, com rendimento de grãos superior a cultivar original variando de 0,7 a 3,0%. A seleção de plantas individuais em ultrabaixa densidade dentro de cultivares elite de soja, foi efetiva em identificar linhagens de soja mais produtivas.

**Palavras-chave:** *Glycine max* (L.) Merrill. Eficiência de Seleção. Ausência de Competição. Ganho Genético. *Honeycomb Selection Designs*. Teores de Óleo e Proteína.

#### ABSTRACT

The exploration of intracultivar genetic variation, although important, has not been used due to the assumption that elite cultivars are highly homogeneous. In this context, the methodology of selection in ultra-low density Honeycomb Selection Designs (HSD), presents itself as an alternative method capable of exploring this variation, promoting more efficient selection of genotypes in a short period of time. In order to explore the genetic variation intracultivar, the present study shows the results of the application of the HSD methodology for two years and evaluation of the selected lines in an field trial, under competition. In 2014/15 crop season, individual plants of two soybean cultivars were grown under ultra-low density (1.0 plant m<sup>-2</sup>), in two locations. From the cultivar BRS 284, 711 plants were evaluated, 355 in Londrina/PR and 356 in Ponta Grossa/PR. From the cultivar BRS 1001IPRO, 710 plants were evaluated, 356 and 354 in Londrina/PR and Ponta Grossa/PR, respectively. The best 20 plants of each cultivar were selected (10 from each site) based on the Plant Yield Index,  $PYI = (x/\bar{x}_r)^2$ , where  $x$  corresponds to the productivity of each individual plant, and  $\bar{x}_r$  corresponds to the average productivity of neighboring plants. In 2015/16, the plants selected in the previous year were evaluated again in the absence of competition using the HSD R-21 model (20 entries + original cultivar), with 20 replicates, totaling 420 plants per cultivar per site. Based on the  $pPE = PYI.SI$ , where  $SI = (\bar{x}_g/s)^2$  is the Stability Index, where  $\bar{x}_g$  is the average productivity of each family (plants originated from the same mother), and  $s$  the standard deviation of each family; five lines were selected within the cultivar BRS 284 and three lines were selected within cultivar BRS 1001IPRO. These lines were then evaluated under competition, with a population of 320,000 plants ha<sup>-1</sup>, in several locations, maintaining the original cultivar as standard. The selection of individual plants at ultra-low density was effective in identifying significant genetic variation for grain yield and also for other desirable agronomic characteristics, such as plant height, days for flowering and maturation, lodging and mass of 1000 seeds, within soybean cultivars

considered homogeneous in a short period of time. The main highlight was the line 284-32-17-3, which presented grain yield 3.8% and 5.7% higher than the cultivar BRS 284 in the Soybean Macro-regions 1 and 3, respectively. Lines 284-85-19-4, 284-9-20-5 and 1001-249-8-3 presented good performance, with grain yield higher than the original cultivar, varying from 0.7 to 3.0%. The selection of individual ultra-low-density plants within elite soybean cultivars was effective in identifying more productive soybean lines.

**Key words:** *Glycine max* (L.) Merrill. Selection efficiency. Absence of Competition. Genetic Gain. Honeycomb Selection Designs. Oil and Protein Content.

### 3.1 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é a leguminosa mais cultivada no mundo, com produção de 336,7 milhões de toneladas. O Brasil é um dos maiores produtores de soja em nível mundial, juntamente com os EUA e seguidos pela Argentina, China e Paraguai (USDA, 2018). Na safra 2017/18, o Brasil teve uma área cultivada de 35,1 milhões de hectares com a cultura e uma produção de cerca de 116,9 milhões de toneladas (CONAB, 2018). Devido aos seus altos teores de proteína, óleo, vitaminas, minerais e fibras, o grão apresenta diversas possibilidades de uso como farelo, óleos, biodiesel, entre outros (PRIMOMO et al, 2002; SEDIYAMA, 2009; LEITE et al., 2012).

Desde os primeiros trabalhos visando o melhoramento de soja no Brasil um dos principais objetivos dos programas de melhoramento tem sido o incremento da produtividade de grãos, visando a rentabilidade da cultura e a redução da expansão de áreas cultivadas. Sabe-se que a expressão da produtividade é função dos componentes genéticos e ambientais, assim como da interação entre ambos; além disso, a produtividade é considerada uma característica quantitativa que normalmente apresenta baixa herdabilidade, dificultando a seleção e a avaliação do potencial produtivo de novos genótipos. Como consequência, é necessário realizar uma extensiva gama de ensaios em diversos locais e anos, visando identificar genótipos superiores em produtividade e estabilidade de produção em certa amplitude de ambientes que representem os efeitos limitantes de clima, solo, pragas e doenças (ALMEIDA et al., 1999).

Uma das linhas de pesquisa dos programas de melhoramento que também apresenta grandes desafios é o melhoramento de cultivares comerciais que, além de apresentar todas as dificuldades mencionadas, também apresenta algumas limitações com relação ao

mercado. De acordo com o 3º levantamento de adoção da biotecnologia agrícola no Brasil, safra 2016/17 (CELERES, 2017), para o total da cultura da soja, a área com cultivares transgênicas atingiu 32,7 milhões de hectares, ou seja, 96,5% do total semeado. Desta forma, observa-se que, além das limitações relacionadas ao tempo de desenvolvimento da cultivar e dificuldades em obter cultivares mais produtivas, o melhoramento convencional ainda enfrenta as limitações do baixo apelo comercial.

Devido a estas limitações, entre outros fatores, tem sido observados reduzidos ganhos genéticos, da ordem de 0,59 % a 3,5% ao ano (TOLEDO et al., 1990; ALLIPRANDINI et al., 1993; LANGE; FEDERIZZI, 2009; PAGLIOSA, 2016; MEZZALIRA, 2017). Além da limitação de ganho anual, é de amplo conhecimento o fato de que o desenvolvimento de uma nova cultivar é uma atividade demorada e onerosa. Sendo assim, uma alternativa para se obter cultivares mais produtivas, principalmente dos programas convencionais, de menor demanda comercial, é a exploração da variação genética intracultivar.

Embora importante, a exploração da variação genética intracultivar não tem sido muito utilizada devido a crença de que as cultivares elite são altamente homogêneas. Apesar da homogeneidade das cultivares elite, existe variação genética latente entre plantas individuais de uma cultivar, além de que, mecanismos que geram uma nova variação (variação “de novo”) podem estar presentes. Rasmusson e Philips (1997) reportaram que existem mecanismos que podem proporcionar uma contínua fonte de variação genética e lançaram a hipótese de que o ganho de seleção ocorre devido à variação presente no *pool* de genes original. De acordo com os autores, os mecanismos que podem gerar essa variação “de novo” são a recombinação intragênica, transposons, *crossing over*, metilação do DNA e amplificação gênica. Esses mecanismos que criam novas variações podem acumular mutações indesejáveis que contribuem, gradualmente, para a degeneração de uma cultivar (FASOULA, 1990, 2012; TOKATLIDIS et al., 2011); todavia, esta variação pode ser explorada pelo melhoramento, além de que características indesejáveis podem ser eliminadas.

Visando explorar a variação genética intracultivar de forma a selecionar genótipos de forma mais eficiente, aumentando o ganho genético anual e acelerando o processo de desenvolvimento de uma nova cultivar, Fasoulas e Fasoula (1995) desenvolveram uma nova metodologia de seleção de plantas em ultrabaixa densidade, denominada de *Honeycomb Selection Designs* (HSD). O método HSD consiste em um conjunto de arranjos de seleção que compreende três ferramentas distintas: i) efetiva amostragem da diversidade

ambiental; ii) efetiva seleção entre e dentro dos genótipos; e iii) seleção simultânea para adaptação local ou regional. No modelo HSD as plantas são arranjadas no campo de forma hexagonal, onde a unidade de avaliação e seleção é a planta individual cultivada na ausência de competição. A competição interfere na divisão igual de recursos para crescimento das plantas, resultando na proliferação gradual de plantas com baixa produtividade - fortes competidoras - em detrimento das plantas com alta produtividade - fracas competidoras - reduzindo a produtividade (FASOULA; FASOULA, 1997, 2002). O modelo utiliza a repetição móvel (“moving replicate”) que reduz o efeito da heterogeneidade do solo na produtividade das plantas individuais e a grade móvel (“moving grids”), que permite a distribuição das plantas em toda a área experimental, permitindo a amostragem da heterogeneidade do solo e a seleção para estabilidade (Figura 3.2).

Um avanço no processo de seleção foi a criação da metodologia “Prognostic Breeding” (FASOULA, 2013). Esta metodologia particiona o potencial produtivo em dois componentes: os genes que controlam o potencial produtivo e os genes que controlam a estabilidade de performance. A novidade da metodologia é que a avaliação para produtividade e estabilidade é realizada na mesma geração avaliando o potencial de cada planta e/ou de suas famílias.

Alguns estudos têm investigado a variação genética e a possibilidade de seleção de plantas individuais dentro de cultivares elite, utilizando a metodologia HSD, em diversas culturas. Em trigo, a seleção de plantas dentro da cultivar “Nestos” quanto à produtividade e outras características, sob ausência de competição (1 planta m<sup>-2</sup>), possibilitou a seleção de linhagens até 38% mais produtivas que a cultivar padrão (TOKATLIDIS et al., 2004). Em cevada, a seleção intracultivar de linhagens comerciais e não comerciais sob ultrabaixa densidade (1,2 plantas m<sup>-2</sup>), durante dois anos, para as características produtividade, massa de 1000 sementes, número de espigas, entre outras, resultou na seleção de linhagens mais produtivas e mais estáveis (GREVENIOTIS et al., 2009).

Em soja, Fasoula e Boerma (2005a), avaliaram a seleção intracultivar para produtividade de grãos dentro da cultivar “Haskel” utilizando o modelo de seleção em ultrabaixa densidade HSD, durante dois anos, e observaram que 2 linhagens superaram a cultivar original em 4 e 5%. Fasoula e Boerma (2005b, 2007) também estudaram a presença de variação genética para diversas características (como teores de óleo e proteína, composição de ácidos graxos, massa de sementes, dias para maturação, altura de plantas e resistência ao acamamento), em linhagens selecionadas dentro das cultivares “Benning”, “Haskel” e

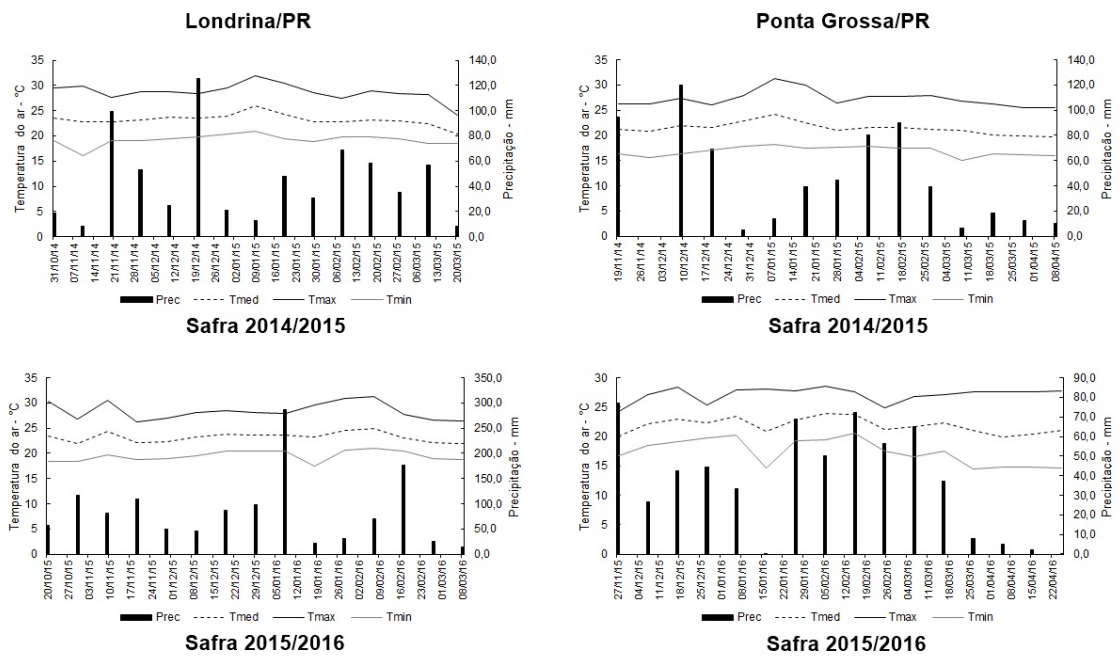
“Cook”, sob ultrabaixa densidade (1,4 plantas m<sup>-2</sup>), e observaram que a seleção foi efetiva na identificação de variação significativa para as características avaliadas. As linhagens selecionadas foram registradas como fonte de germoplasma (FASOULA et al., 2007a; 2007b, 2007c).

Assim, o objetivo deste trabalho foi explorar a variação genética intracultivar para rendimento de grãos, dentro das cultivares comerciais de soja BRS 284 e BRS 1001IPRO, utilizando o modelo de seleção em ultrabaixa densidade HSD, em um curto espaço de tempo.

### 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

A Semente Básica de duas cultivares elite de soja lançadas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) foram utilizadas como material de seleção. A cultivar convencional BRS 284 foi lançada em 2007, é do Grupo de Maturação (GM) = 6.3, tem tipo de crescimento indeterminado e moderada resistência ao nematoide de galhas *Meloidogyne javanica*. A cultivar BRS 1001IPRO foi lançada em 2014, é transgênica com a tecnologia Intacta RR2 PRO™, GM = 6.2, tem tipo de crescimento indeterminado e moderada resistência ao nematoide de galhas *Meloidogyne javanica* (EMBRAPA SOJA, 2016).

Os experimentos foram conduzidos nas safras 2014/15 e 2015/16, em dois ambientes contrastantes: Londrina/PR (23° 20' LS e 51° 18' LW) e Ponta Grossa/PR (25° 17' LS, 50° 09' LW), cujos dados edafoclimáticos são apresentados na Figura 3.1 e Tabela 3.1.



**Figura 3.1** - Temperaturas máxima, mínima, média e precipitação pluviométrica semanais, durante o período de condução dos experimentos de seleção nos agrícolas de 2014/2015 e 2015/2016 em Londrina/PR e em Ponta Grossa/PR.

**Tabela 3.1** – Altitude e características químicas do solo, na camada de 0 a 20 cm, nas áreas experimentais de Londrina/PR e Ponta Grossa/PR.

Locais	Altitude <i>m</i>	pH	Al	H+Al	----- <i>cmolc/dm<sup>3</sup></i> -----					CTC	V% %	P <i>mg.dm<sup>-3</sup></i>
					Ca	Mg	K	SB	-----			
Londrina/PR	585	5,0	0,0	4,1	4,1	1,4	0,8	6,5	10,2	59,3	16,2	
Ponta Grossa/PR	969	5,1	0,0	3,6	3,2	1,3	0,4	5,6	9,8	56,7	18,5	

### 3.2.1 *Honeycomb Selection Designs* (HSD) sem Repetição (safra 2014/15)

Na safra 2014/15, 400 plantas de cada cultivar, BRS 284 e BRS 1001IPRO, e em cada local, foram cultivadas em condições de ultrabaixa densidade (1,0 planta m<sup>-2</sup>) (Apêndice D), utilizando o modelo de seleção *Honeycomb Selection Designs* (HSD) sem repetição (FASOULAS; FASOULA, 1995). Desta forma, foram conduzidos dois blocos, sendo um para cada genótipo, cada um com 400 plantas, nos dois locais. Em Londrina, o experimento foi instalado em 31/10/2014 e a colheita realizada entre 05 e 20/03/2015; em Ponta Grossa, a semeadura foi realizada em 19/11/2014, e a colheita entre 24/03 e 08/04/2015. Foram semeadas quatro sementes por cova e, 15 dias após a semeadura, foi realizado o desbaste, de forma a deixar apenas uma planta por cova. Durante a condução dos experimentos, foram eliminadas as plantas que poderiam ser misturas, detectadas através da observação da cor da pubescência e cor da flor e, após a colheita, pela cor do hilo. Os tratos fitossanitários foram efetuados conforme recomendação para a cultura da soja (EMBRAPA, 2013)

Após a colheita, as plantas foram trilhadas individualmente, evitando-se a mistura de sementes. Foram coletados dados de rendimento de planta individual (g planta<sup>-1</sup>), foi calculada a porcentagem de rendimento com relação à média de rendimento de seis plantas vizinhas, e foi calculado o Índice de Rendimento de Planta Individual,  $PYI = (x/\bar{x}_r)^2$ , para cada planta, onde o  $x$  corresponde à produtividade de cada planta individual, e o  $\bar{x}_r$  corresponde à média de produtividade de seis plantas vizinhas. Os valores de  $PYI$  (sem unidade) estimados podem atingir valores superiores ou inferiores a 1,0, sendo que, quanto maior o valor, maior a superioridade produtiva da planta em questão. Esses valores expressam a magnitude com que as plantas selecionadas suplantaram a média de produtividade das plantas vizinhas (FASOULA, 2013).

As 30 melhores plantas de cada local foram caracterizadas quanto a resistência às doenças cancro da haste (*Diaporthe aspalathi*), mancha olho de rã (*Cercospora sojina*), podridão radicular de Phytophthora (*Phytophthora sojae*), quanto ao nematoide de galhas *Meloidogyne javanica* e quanto aos teores de óleo e proteína, visando a manutenção das características da cultivar original.

De acordo com os valores de  $PYI$ , rendimento de planta individual e considerando também a manutenção das características da cultivar original, foram selecionadas 20 plantas de cada cultivar, dez de cada local, para serem avaliadas na safra

seguinte. As plantas foram identificadas com o número da cultivar da qual é originária (284 ou 1001), seguido pelo número de ordem da planta no HSD (1 a 400).

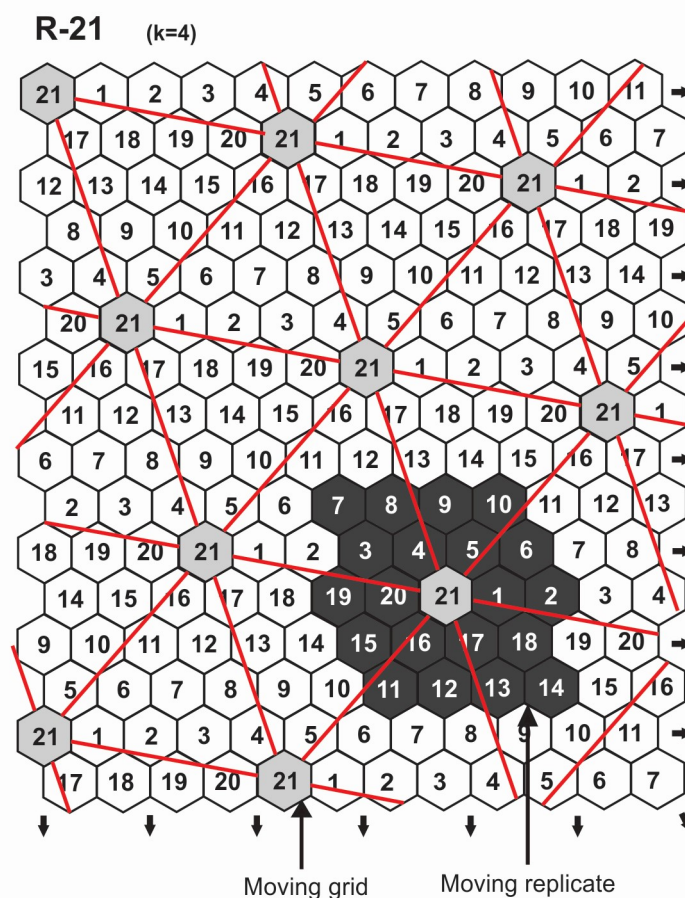
### 3.2.2 *Honeycomb Selection Designs* (HSD) com Repetição – R-21 (safra 2015/2016)

Na safra 2015/2016, as 20 plantas selecionadas no ano anterior, mais a cultivar original (21 entradas), com 20 repetições, totalizando 420 plantas por local, por cultivar, foram avaliadas em ultrabaixa densidade (1,0 planta m<sup>-2</sup>), utilizando o modelo HSD R-21 (FASOULAS; FASOULA, 1995). As plantas foram identificadas com a numeração do ano anterior (284-... ou 1001-...), acrescido do número de ordem da safra 2015/16 (1 a 21), onde as linhagens selecionadas em Londrina receberam numeração adicional de 1 a 10, as linhagens selecionadas em Ponta Grossa receberam a numeração adicional de 11 a 20 e a cultivar original o número 21. Diferentemente do primeiro ano de seleção, onde as cultivares foram avaliadas sem repetição, neste ano foi possível realizar a estimativa do Índice de Estabilidade ou Coeficiente de Homeostase (*SI*) de cada família, pois as 20 plantas irmãs (provenientes da mesma planta mãe selecionada na safra anterior) estavam distribuídas ao longo do bloco formando uma “grade móvel” (Figura 3.2). Isto permite o cálculo da Equação de Prognóstico de Planta (*pPE*), que combina o rendimento de planta individual com a estabilidade, ocasionando uma seleção mais precisa e eficiente (FASOULA, 2013).

Em Londrina/PR, o experimento foi instalado em 20/10/2015 e a colheita realizada em 05/03/2016, e em Ponta Grossa/PR o experimento foi instalado em 27/11/2015 e colhido em 20/04/2016. Os cuidados relacionados ao desbaste, tratamento fitossanitário, identificação de misturas, assim como a caracterização para manutenção das características do material original, foram os mesmos da safra 2014/15.

Foram obtidos dados de rendimento de planta individual (g planta<sup>-1</sup>), Índice de Rendimento de Planta Individual,  $PYI = (x/\bar{x}_r)^2$ , considerando a média de produtividade de 24 plantas vizinhas, e Índice de Estabilidade ou Coeficiente de Homeostase,  $SI = (\bar{x}_g/s)^2$ , sendo  $\bar{x}_g$  a produtividade média de cada família (plantas originadas da mesma mãe) e  $s$  o desvio padrão de cada família (Figura 3.2). Posteriormente, foi calculado o produto destes dois índices pela Equação de Prognóstico de Planta,  $pPE = (x/\bar{x}_r)^2 (\bar{x}_g/s)^2$ , que mede o potencial produtivo de plantas individuais e assegura a eficiência da seleção das melhores plantas (FASOULA, 2013). Os valores de *PYI*, *SI* e *pPE* foram calculados com o auxílio do programa EXCEL 2010.

Não houve seleção visual, as plantas selecionadas dentro da cultivar BRS 284 foram escolhidas com base nos cinco maiores valores de  $pPE$ , independentemente do local de seleção. Com relação à cultivar BRS 1001IPRO, não foi possível utilizar o critério de maior  $pPE$ , devido à dificuldade de manter as características da cultivar original com relação à resistência a doenças e nematoides (Apêndice A). Visando atingir o volume de sementes necessário para compor a rede de experimentação sob competição no ano seguinte, foram agrupadas as quatro melhores plantas dentro de cada família, totalizando 500 gramas de sementes para multiplicação no inverno.



Fonte: FASOULAS; FASOULA, 1995 (modificado).

**Figura 3.2** – Modelo de seleção em ultra baixa densidade *Honeycomb Selection Designs* R-21 com 21 entradas.

\*Cada planta é alocada no centro de uma “repetição móvel” (*moving replicate*), mostrado na figura em cinza circundando plantas da família nº 21 (plantas oriundas da mesma mãe). O índice de rendimento de planta individual,  $PYI = (x/\bar{x}_r)^2$ , mede o rendimento da planta sem os efeitos causados pela heterogeneidade do solo (sendo  $x$  o rendimento de grãos de cada planta individual e  $\bar{x}_r$  o rendimento médio das 20 plantas vizinhas dentro da “repetição móvel”). As repetições de cada linhagem estão presentes nos cantos de uma “grade móvel” (*moving grid*) espalhada através de todo o experimento e amostrando, de forma efetiva, a heterogeneidade do solo. A “grade móvel” permite a estimativa da estabilidade de cada linhagem através da equação do índice de estabilidade ou coeficiente de homeostase,  $SI = (\bar{x}_g/s)^2$ , onde  $\bar{x}_g$  e  $s$  são o rendimento médio e o desvio padrão de cada família, respectivamente.

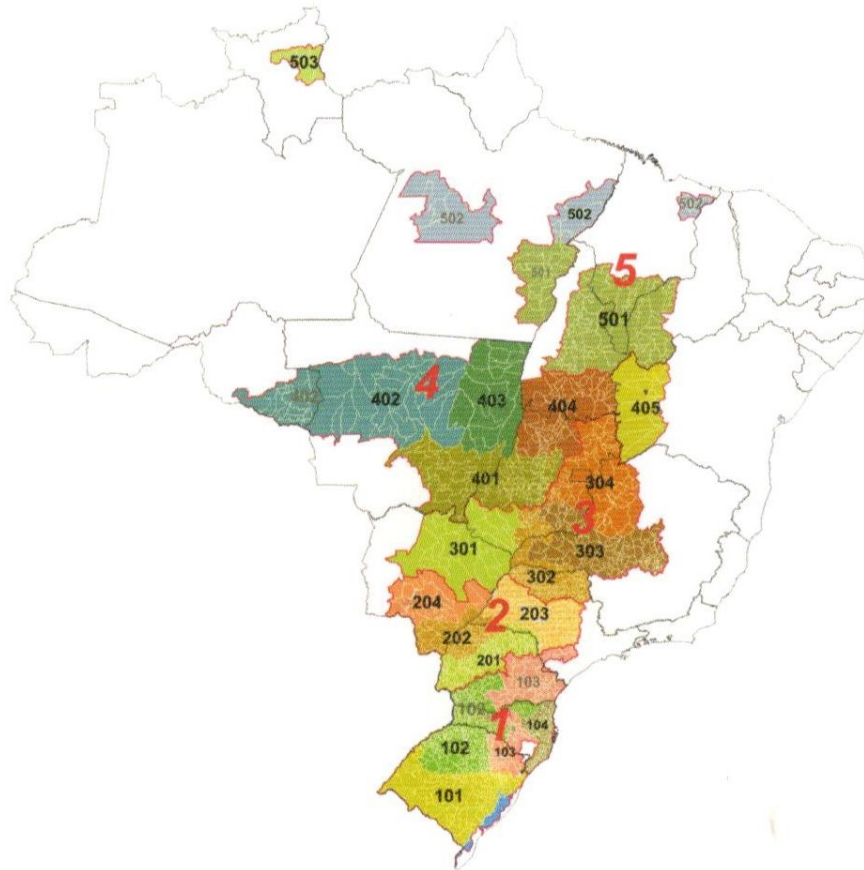
### 3.2.3 Avaliação das linhagens sob competição

As avaliações sob competição, utilizando 320.000 plantas ha<sup>-1</sup>, foram realizadas conforme as Macrorregiões sojícolas (MRS) propostas por Kaster e Farias (2012) (Figura 3.3). As cinco melhores linhagens selecionadas dentro da cultivar BRS 284 foram avaliadas sob competição na safra 2016/17, em quatro locais situados na MRS 1 (Campos Novos-SC; Guarapuava-PR, Ponta Grossa-PR, Ponta Grossa 1-PR) e em três locais situados na MRS 3 (São Gabriel do Oeste-MS; Rio Verde-MS e Bom Jesus de Goiás-GO). Na MRS 2, somente quatro linhagens selecionadas dentro da cultivar BRS 284 foram avaliadas em sete locais (Campo Mourão/PR, Palotina/PR, Londrina/PR, Londrina 1/PR, Naviraí/MS; Santa Cruz do Rio Pardo/SP e Maracaju/MS). As três linhagens com melhor desempenho foram avaliadas novamente sob competição na safra 2017/18, sendo duas delas (284-32-17-3 e 284-85-19-4) avaliadas em seis locais na MRS 1 (Campos Novos/SC; Guarapuava/PR, Ponta Grossa/PR, Ponta Grossa 1/PR, Ventania/PR e Candió/PR), e em seis locais na MRS 3 (São Gabriel do Oeste/MS; Chapadão do Sul/MS, Rio Verde/MS, Nuporanga/SP, Indianópolis/MG e Buriti Alegre/GO), e uma delas avaliada em oito locais na MRS 2 (Campo Mourão/PR, Londrina/PR, Londrina 1/PR, Faxinal do Céu/PR, Andirá/PR, Naviraí/MS, Santa Cruz do Rio Pardo/SP e Maracaju/MS).

Três linhagens selecionadas dentro da cultivar BRS 1001IPRO foram avaliadas na safra 2016/17, em 14 locais situados na MRS 2 (Cascavel/PR; Campo Mourão/PR; São Miguel do Iguazú/PR; Palotina/PR; Floresta/PR; Londrina/PR; Laguna Carapã/MS; Caarapó/MS; Naviraí/MS; Santa Cruz do Rio Pardo/SP; Paranapanema/PR; Maracaju/MS; Dourados/MS e Antônio João/MS), e em sete locais situados na MRS 3 (São Gabriel do Oeste/MS; Chapadão do Sul/MS; Rio Verde/MS; Nuporanga/SP; Bom Jesus de Goiás/GO; Araguari-MG e Iraí de Minas/MG) (Figura 3.3). Não houve avaliação sob competição das linhagens selecionadas dentro da cultivar BRS 1001IPRO na safra 2017/18.

A semeadura da rede de experimentos foi realizada em outubro e novembro e a colheita, em março e abril, nas duas safras. As características avaliadas foram: rendimento de grãos (em kg ha<sup>-1</sup>, com umidade corrigida para 13%); massa de 100 sementes (g); altura de planta (cm) - distância, em cm, medida a partir da superfície do solo até a extremidade da haste principal da planta, na época da maturação; dias para o florescimento - número de dias contados a partir da emergência, necessários para que se tenha uma flor aberta em 50% das

plantas da parcela; dias para a maturação - número de dias contados, a partir da emergência, necessários para que se tenha 95% de vagens maduras na parcela; acamamento – notas de 1 a 5, sendo 1 para nenhuma planta acamada e 5 para todas as plantas acamadas; resistência à doenças; e teores de óleo e de proteína (Apêndice C).



Fonte: Adaptado de KASTER; FARIAS, 2012.

**Figura 3.3** - Macrorregiões Sojícolas – Terceira Aproximação. Embrapa Soja, Londrina - PR. 2011.

O modelo experimental utilizado foi o em blocos ao acaso, com quatro repetições. Cada parcela foi constituída de quatro linhas de 5,0 m espaçadas de 0,5 m. Os dados obtidos para cada MRS e para cada genótipo foram submetidos à análise de variância conjunta, sendo que os dados de acamamento foram transformados em arco seno de  $(x/100)^{0.5}$ . Verificou-se a razão entre o maior e o menor quadrado médio residual pelo teste de Hartley para proceder a análise de grupo de experimentos (BANZATTO; KRONKA, 2015). As análises foram realizadas com o auxílio computacional do *software* estatístico R (R CORE TEAM, 2016).

### 3.3 RESULTADOS

O estudo durou quatro anos, os primeiros dois anos foram dedicados à seleção de plantas individuais dentro das cultivares comerciais BRS 284 e BRS 1001IPRO e, posteriormente, as linhagens selecionadas foram avaliadas sob competição, no Delineamento em Blocos Casualizados (DBC), visando acessar a eficiência de seleção, sempre em comparação com a cultivar original.

#### 3.3.1 Safra 2014/15

O rendimento médio de planta individual das 355 plantas da cultivar BRS 284 colhidas em Londrina foi de 172,7 g planta<sup>-1</sup>, superior ao rendimento médio das 356 plantas colhidas em P. Grossa que foi de 154,0 g planta<sup>-1</sup>. Com relação à cultivar BRS 1001IPRO o rendimento de planta individual foi de aproximadamente 130,0 g planta<sup>-1</sup> para as 359 e 354 plantas colhidas em Londrina e P. Grossa respectivamente. Os coeficientes de variação (CV%) ficaram entre 16,1% e 20,8% para as plantas das duas cultivares nos dois locais (Tabela 3.2). Também na Tabela 3.2 é apresentado um resumo com os resultados das 30 melhores plantas dos dois genótipos nos dois locais, ranqueadas com base no Índice de Rendimento de Planta Individual (*PYI*). Os valores de *PYI* variaram de 0,93 a 3,06 entre as plantas selecionadas dentro da cultivar BRS 284 nos dois locais. Entre as plantas selecionadas dentro da cultivar BRS 1001IPRO os valores de *PYI* variaram de 1,04 a 2,76. A porcentagem sobre o rendimento médio das seis plantas vizinhas “moving replicate” acompanhou o ranqueamento do *PYI*. As 30 melhores plantas selecionadas dentro da cultivar BRS 284 apresentaram rendimento médio variando de 238,5 g em Londrina e 198,0 g em P. Grossa, superiores ao rendimento médio de 182,3 g e 174,2 g em Londrina e P. Grossa respectivamente, das plantas selecionadas dentro da cultivar BRS 1001IPRO.

De acordo com os valores de *PYI*, do rendimento de planta individual, da porcentagem sobre as plantas vizinhas e, considerando também outras características como a resistência a doenças e o teor de óleo e proteína (dados não publicados), de forma a manter as características determinantes da cultivar original, 20 linhagens de cada cultivar, sendo dez de cada local (pressão de seleção de 2,8%), foram selecionadas para serem testadas no ano seguinte (safra 2015/16).

### 3.3.2 Safra 2015/16

Foram colhidas 399 plantas da cultivar BRS 284 em Londrina com rendimento médio de 134,5 g planta<sup>-1</sup>. O número de plantas colhidas dentro de cada família variou de 17 a 20 plantas com média de rendimento de planta individual variando de 119,5 a 152,9 g planta<sup>-1</sup>; o desvio padrão variou de 19,57 a 32,40; o *SI* variou de 17,10 a 46,94 e o *pPE* variou de 5,79 a 97,86. Em P. Grossa foram colhidas 371 plantas com rendimento médio de 160,1 g planta<sup>-1</sup>. O número de plantas colhidas dentro de cada família variou de 14 a 20 plantas com média de rendimento de planta individual variando de 149,1 a 170,1 g planta<sup>-1</sup>; o *SI* variou de 13,03 a 101,29 e o *pPE* variou de 3,24 a 225,27.

Da cultivar BRS 1001IPRO foram colhidas 335 plantas em Londrina com rendimento médio de 106,0g planta<sup>-1</sup>. O número de plantas colhidas dentro de cada família variou de 13 a 20 plantas com média de rendimento de planta individual variando de 86,2 a 127,0 g planta<sup>-1</sup>; o *SI* variou de 11,2 a 42,50 e o *pPE* variou de 4,90 a 146,8. Em P. Grossa foram colhidas 394 plantas com rendimento médio de 118,8 g planta<sup>-1</sup>. O número de plantas colhidas dentro de cada família variou de 13 a 20 plantas com média de rendimento de planta individual variando de 109,3 a 129,2 g planta<sup>-1</sup>; o *SI* variou de 16,10 a 54,70 e o *pPE* variou de 5,10 a 134,20.

Na Tabela 3.3 é apresentado o resumo com os resultados das 30 melhores plantas selecionadas dentro da cultivar BRS 284, ranqueadas pelo valor de *pPE*, nos dois locais. Das 21 famílias avaliadas somente oito aparecem entre as 30 melhores plantas em cada local. Entre as 15 melhores plantas somente cinco famílias aparecem em cada local. A cultivar original BRS 284 não aparece, indicando a possibilidade de acessar a variação intracultivar através da seleção. Os valores de *PYI* (sem unidade) indicam a superioridade produtiva do genótipo em questão, em comparação com as 24 plantas vizinhas, “moving replicate” (Fig.3.2), e variaram de 1,11 a 2,15 em Londrina e de 0,93 a 5,53 em P. Grossa. O *pPE* (sem unidade), permite a comparação entre diferentes locais, sendo que, os valores de P. Grossa, que variaram de 77,59 a 225,27, foram superiores aos de Londrina, que variaram de 51,06 a 97,86.

Foram selecionadas cinco famílias, com base nos maiores valores de *pPE*, independentemente do local: 284-85-19 (*pPE*=225,27), 284-9-20 (*pPE*=118,33), 284-324-10 (*pPE*=116,09), 284-32-17 (*pPE*=108,38) e 284-223-2 (*pPE*=97,86) (Tabela 3.3). Essas famílias também apresentaram valores maiores para o Índice de estabilidade (*SI*), assegurado

pela disposição das plantas irmãs (originárias da mesma planta mãe) em toda a área experimental através do “moving grid” (Figura 3.2). Das famílias selecionadas, três vieram das plantas selecionadas em P. Grossa na safra anterior e duas vieram das plantas selecionadas em Londrina. Apesar do aparente equilíbrio parece haver forte interação genótipo X ambiente, pois as famílias que aparecem em P. Grossa não aparecem em Londrina, com exceção da família 284-324-10 que aparece nos dois locais, mas com maiores valores de *pPE* em P. Grossa.

Na Tabela 3.4 é apresentado o resumo com os resultados das 30 melhores plantas selecionadas dentro da cultivar BRS 1001IPRO, ranqueadas pelo valor de *pPE*, nos dois locais. Das 21 famílias avaliadas 11 aparecem entre as 30 melhores plantas de Londrina e 9 em P. Grossa. Entre as 15 melhores plantas 7 famílias aparecem em cada local. A cultivar padrão BRS 1001IPRO aparece em Londrina, indicando maior dificuldade de acessar a variação intracultivar em comparação com a BRS 284. Os valores de *PYI* variaram de 1,79 a 5,20 em Londrina e de 1,24 a 2,48 em P. Grossa. O *pPE* (sem unidade) permite a comparação entre diferentes locais, sendo que, os valores de P. Grossa variaram de 67,70 a 134,18, e os de Londrina variaram de 75,38 a 146,78.

No caso da cultivar BRS 1001IPRO não foi possível utilizar o critério de maior *pPE* para seleção, devido à dificuldade de manutenção das características da cultivar original com relação a resistência a doenças e nematoides (Apêndice A) e também devido à dificuldade de multiplicação de sementes em quantidade suficiente para compor uma rede com 21 locais. Desta forma, foram avançadas as famílias 1001-249-8 (*pPE*= 134,18), 1001-165-16 (*pPE*= 119,85) e 1001-244-17 (*pPE*= 94,23) (Tabela 3.4), pois estas não apresentaram discrepâncias com relação à cultivar original quanto à resistência à doenças e nematoides, e também que produziram sementes suficientes durante a safra de inverno.

Das famílias selecionadas, duas vieram das plantas selecionadas em P. Grossa na safra anterior e uma de planta selecionada em Londrina. No caso da BRS 1001IPRO um maior número de famílias estão presentes entre as 30 melhores plantas, três famílias são comuns aos dois locais e um maior número de plantas selecionadas em Londrina no ano anterior foi destaque em P. Grossa e um maior número de plantas selecionadas em P. Grossa foi destaque em Londrina.

### 3.3.3 Safras 2016/17 e 2017/18 (Linhagens Seleccionadas Dentro da Cultivar BRS 284):

Na Tabela 3.5 são apresentados os dados da análise conjunta das duas safras, mantendo as linhagens que apresentaram melhor desempenho no primeiro ano. Para melhor acompanhamento das linhagens, foi mantida a numeração vinda dos anos anteriores acrescida dos números de 1 a 5. Na MRS 1, a linhagem 284-32-17-3 apresentou rendimento de grãos de  $5.866 \text{ kg ha}^{-1}$ , 3,8% superior à cultivar BRS 284, sendo estatisticamente diferente da mesma. Também houve redução significativa nos dias para o florescimento (DF), dias para maturação (DM) e aumento das notas para acamamento (AC). Quanto às características altura de planta (AP) e massa de 100 sementes (M100), não foram observadas diferenças estatísticas significativas. A linhagem 284-85-19-4 também apresentou bom desempenho na MRS 1, com rendimento de grãos de  $5.820 \text{ kg ha}^{-1}$ , 3,0% superior à cultivar original mas sem diferir estatisticamente da mesma. Para as demais características avaliadas, foi observada a mesma tendência observada na linhagem 284-32-17-3 quando comparada com a cultivar original. Entre as duas linhagens houve apenas diferença estatística significativa para DF e DM, sendo a linhagem 284-32-17-3 mais precoce.

Na MRS 2, o genótipo 284-9-20-5 apresentou rendimento médio de  $4.846 \text{ kg ha}^{-1}$ , sendo superior à cultivar original em 1,7%, mas não diferiu estatisticamente da mesma (Tabela 3.5). Também houve diferença estatística significativa para M100, sendo a linhagem superior a cultivar original. Não foram observadas diferenças estatísticas significativas para as demais características avaliadas. Na MRS 3, a linhagem 284-32-17-3 apresentou rendimento médio de grãos de  $4.309 \text{ kg ha}^{-1}$ , superior em 5,7% a cultivar original, mas não diferindo estatisticamente da mesma (Tabela 3.5). Também houve diferença estatística significativa para as características AP, DF e DM, sendo que na MRS 3 a linhagem 284-32-17-3 apresentou porte mais baixo e foi mais tardia que a BRS 284. Semelhantemente aos resultados obtidos na MRS 1, a linhagem 284-85-19-4 também apresentou bom desempenho na MRS 3, com produtividade de  $4.107 \text{ kg ha}^{-1}$ , superando a cultivar BRS 284 em 0,7%, mas sem apresentar diferença estatística significativa. Houve diferença estatística significativa para as características AP, DF e DM quando comparada com a cultivar original, sendo a linhagem mais baixa e mais tardia. Entre as duas linhagens houve diferença estatística significativa para DF, observando a mesma tendência ocorrida na MRS 1.

Com relação aos teores médios de óleo e proteína (Tabela 3.6) houve pouca variação, sendo que as linhagens selecionadas dentro da cultivar BRS 284 variaram de 23,07% a 23,82% e de 36,29% a 37,20% para os teores de óleo respectivamente, não diferindo estatisticamente da cultivar original.

#### 3.3.4 Safra 2016/17 (Linhagens Selecionadas Dentro da Cultivar BRS 1001IPRO)

Na MRS 2, a linhagem 1001-249-8-3 apresentou rendimento médio de grãos de 4.376 kg ha<sup>-1</sup>, 1,2% superior a cultivar BRS 1001IPRO, mas não diferiu estatisticamente da mesma (Tabela 3.7). Quanto às demais características agrônômicas avaliadas, a linhagem 1001-249-8-3 apresentou diferença estatística significativa para AP, DM e M100, sendo mais baixa, mais tardia e com menor M100. Não houve diferença estatística significativa para notas de acamamento. As linhagens 1001-244-17-5 e 1001-165-16-4 apresentaram rendimento de grãos inferior a cultivar BRS 1001IPRO mas não diferiram estatisticamente da mesma. As duas linhagens não diferiram estatisticamente da cultivar original para AP e AC, mas a linhagem m1001-244-17-5 diferiu da cultivar original em DM e M100. A linhagem 1001-165-16-4 diferiu apenas na M100 da cultivar original. Entre as linhagens houve diferença estatística significativa para AP e AC.

Na MRS 3, as três linhagens não diferiram estatisticamente da cultivar original para rendimento médio de grãos, mas apresentaram valores numericamente inferiores. Para AP somente a linhagem 1001-249-8-3 diferiu estatisticamente da cultivar original apresentando valores menores. Para DF as três linhagens diferiram da cultivar original, apresentando valores inferiores e superiores à mesma. Para DM as linhagens 1001-165-16-4 e 1001-249-8-3 diferiram estatisticamente da cultivar original, sendo a primeira mais precoce e a segunda mais tardia. A linhagem 1001-165-16-4 apresentou menor M100 diferindo estatisticamente da cultivar original e, não houve diferença para AC entre as linhagens e a cultivar original. Entre as linhagens houve diferença estatística significativa para todas as características avaliadas.

Com relação aos teores médios de óleo e proteína (Tabela 3.7), as linhagens derivadas da cultivar BRS 1001IPRO variaram de 22,4% a 23,8% e de 36,4% a 37,9% para óleo e proteína respectivamente, mas não diferiram estatisticamente da cultivar original.

### 3.4 DISCUSSÃO

A seleção de plantas individuais em ultrabaixa densidade (1,0 planta m<sup>-2</sup>) foi efetiva em identificar variação genética significativa para rendimento de grãos e também para outras características agronômicas de interesse, dentro de cultivares de soja consideradas homogêneas, em curto espaço de tempo, dois anos de seleção, conforme pode ser observado nos resultados obtidos com as linhagens selecionadas dentro das cultivares BRS 284 e BRS 1001IPRO.

Pode-se observar na Figura 3.1 que na safra 2014/15 a precipitação pluviométrica em Londrina foi maior e melhor distribuída que a de P. Grossa, o que ajuda a explicar os maiores rendimentos em Londrina. No ano seguinte a precipitação foi maior em P. Grossa onde os rendimentos foram maiores. A temperatura de P. Grossa é mais amena devido a maior altitude, variando entre 15 a 25 °C enquanto a de Londrina variou entre 20 °C a 30 °C.

Os rendimentos médios de planta individual verificados nas plantas selecionadas dentro das cultivares BRS 284 e BRS 1001IPRO (Tabelas 3.2; 3.3 e 3.4) foram semelhantes aos obtidos por Fasoula e Boerma (1997); onde as médias para as 30 melhores plantas selecionadas dentro das cultivares de soja “Haskell”, “Cook” e “Benning” foram respectivamente de 212, 178 e 176 g planta<sup>-1</sup>.

As linhagens com melhor desempenho, obtidas dentro da cultivar BRS 284, foram 284-32-17-3 (MRS 1 e 3), 284-85-19-4 (MRS 1) e 284-9-20-5 (MRS 2) (Tabela 3.5). Fazendo a análise retrospectiva, pode-se observar que as três linhagens foram selecionadas na safra 2014/15 em P. Grossa e ficaram na 5<sup>a</sup>, 16<sup>a</sup> e 22<sup>a</sup> posições entre as 356 plantas colhidas naquele local (Tabela 3.2). Na safra 2015/16, nos experimentos em ultrabaixa densidade com repetição, novamente as três linhagens aparecem somente em P. Grossa, entre as 15 melhores plantas de 371 colhidas e, apresentando os maiores valores de *pPE* (Tabela 3.3). Entre as 15 melhores plantas ranqueadas pelo *pPE* em P. Grossa, a linhagem 284-32-17-3 apresentou o maior rendimento de planta individual e o segundo maior *PYI*, mas apresentou um valor de *SI* apenas intermediário, o que significa a possibilidade de maiores ganhos de seleção caso se mantenha a seleção contínua em ultrabaixa densidade, como proposto por Fasoula (2012). Vale destacar o excelente desempenho dessa linhagem também na MRS 3. A linhagem 284-85-19-4 apresentou comportamento diferente. Aparece 12 vezes entre as 15 melhores plantas de P. Grossa na safra 2015/16, não apresentou os maiores valores para rendimento de planta

individual e *PYI*, mas apresentou alto Índice de Estabilidade ( $SI = (\bar{x}_g/s)^2$ ), ou seja: o desvio padrão (*s*) foi muito baixo ( $s=16,2$ ;  $n= 18$ ) mostrando grande estabilidade das plantas irmãs (originadas da mesma planta mãe) e dispostas em toda a área experimental (“moving grid”) conforme o método HSD. Isso vai ao encontro com o apregoado por Fasoula (2012, 2013), que atribui importância diferenciada aos genótipos que apresentam alto índice de estabilidade.

Fasoula (2012), investigando os efeitos da seleção contínua em uma cultivar de algodão, observou que as duas linhagens que apresentaram os maiores valores de *SI*, foram também as que tiveram os melhores desempenhos em experimentos sob competição nos anos subsequentes; os autores observaram que a linhagem que era superior em *SI*, ou seja, mais estável, porém inferior em rendimento, superou o padrão em 20% em dois anos de avaliação sob competição, enquanto que a outra linhagem que apresentava uma situação oposta de *SI* e rendimento, superou o padrão apenas durante o primeiro ano. No presente trabalho, a linhagem 284-9-20-5 que apresentou o maior *PYI* entre as 15 melhores plantas de P. Grossa e o segundo maior *pPE* entre as famílias dos dois locais, obteve bom desempenho nos 15 ambientes avaliados sob competição na MRS 2. Como P. Grossa fica na MRS 1 era esperado o bom desempenho das linhagens 284-32-17-3 e 284-85-19-4 nessa região. Por outro lado a linhagem 284-9-20-5 obteve bom desempenho na MRS 2. Isso mostra que o ambiente de P. Grossa foi eficiente em selecionar melhores linhagens para as MRS 1, 2 e 3, e também que o genótipo apresenta alta e estável performance entre os ambientes de produção.

Dentre as plantas selecionadas dentro da cultivar BRS 1001IPRO foi destaque a linhagem 1001-249-8-3 com rendimento numericamente superior em 1,2% a cultivar original, em 14 locais da MRS 2 (Tabela 3.8). Cabe salientar que a planta foi selecionada na safra 2014/15 em Londrina com o segundo maior *PYI* (Tabela 3.2) e apresentou na safra 2015/16 o segundo maior *pPE* ( $pPE=134,18$ ), independentemente do local, aparecendo oito vezes entre as 30 melhores plantas em P. Grossa e com o maior *SI*. Destaca-se que a linhagem 1001-249-8-3 não aparece entre as 30 melhores plantas de Londrina na safra 2015/16, indicando novamente a importância do ambiente de P. Grossa para seleção. Interessante observar que os maiores valores de *pPE* foram observados em PGA para as seleções feitas dentro da BRS 284 e em LDA para as seleções feitas dentro da BRS 1001IPRO (Tabelas 3.3 e 3.4), o que está de acordo com a região de adaptação e indicação para cultivo, onde a BRS 1001IPRO não tem adaptação para a MRS 1. O uso da equação *pPE* permite a aplicação de alta pressão de seleção pois é possível identificar as melhores plantas,

que carregam produtividade e estabilidade, o que maximiza o ganho genético e reduz drasticamente o número de plantas selecionadas (FASOULA, 2013). Nesse trabalho foi utilizada pressão de seleção de 2,8% no primeiro ano de seleção em ultrabaixa densidade e de 2,59% e 1,64% para as cultivares BRS 284 e BRS 1001IPRO, respectivamente, no segundo ano. Por outro lado, como a unidade de avaliação é a planta individual, o CV% para produtividade é mais baixo quando comparado com o CV% de plantas sob competição, aumentando a confiabilidade da média, tornando mais efetiva a seleção.

A identificação de genótipos superiores selecionados dentro das duas cultivares, apesar da pequena superioridade numérica da linhagem 1001-249-8-3, mostra que a metodologia foi robusta para identificar linhagens mais produtivas. Cabe ressaltar alguns pontos importantes em relação às duas cultivares: 1) A cultivar BRS 284 é proveniente de cruzamento simples e a cultivar BRS 1001IPRO é derivada da BRS 284, apresentando dois retrocruzamentos em direção ao parental recorrente BRS 284 (PÍPOLO, 20018; informação pessoal). Portanto, especula-se que uma das causas prováveis pela menor eficiência da seleção dentro da BRS 1001IPRO, pode ser a baixa variabilidade existente devido a utilização do método de retrocruzamento para obtenção da cultivar; 2) A cultivar BRS 284 foi lançada em 2007 enquanto a cultivar BRS 1001IPRO foi lançada em 2014, 7 anos após, ano de início dos trabalhos em ultrabaixa densidade; 3) Foram testadas sob competição apenas três linhagens selecionadas dentro da BRS 1001IPRO, isso ocorreu porque a multiplicação de sementes no inverno foi insuficiente para que outros genótipos participassem da rede com 21 locais e a multiplicação de sementes na safra normal atrasaria um ano o programa de lançamento da nova cultivar. Certamente um número maior de linhagens deveria ser testado.

Diversos autores tem procurado explicar a ocorrência de variação intracultivar dentro de cultivares consideradas homogêneas. Sprague et al. (1960) estudando linhagens duplo-haplóides, ou seja, 100% homozigotas, observaram variações fenotípicas entre as progênes em nove características quantitativas. Sendo assim, é especulada a existência de uma fonte alternativa de variação. Rasmusson e Philips (1997) reportaram que o ganho de seleção ocorre devido à variação presente no *pool* de genes original, assim como devido a variação gerada “de novo”. A seleção é importante para explorar a variação nova e eliminar mutações deletérias. Yates et al. (2012) utilizaram marcadores SSR para determinar se as plantas individuais selecionados dentro de três cultivares de soja tinham um único *fingerprint* genético e verificaram que o polimorfismo observado entre as bandas foi resultado, principalmente, da heterozogidade residual inicial das plantas selecionadas para

tornar-se cultivar; entretanto entre 7 a 18% da variação não pode ser detectada na semente original, e foi provavelmente devido a heterozigodade residual não detectada ou resultado de mutação ou outro mecanismo de geração de variação “de novo”.

Através da aplicação dos princípios do modelo de seleção em ultrabaixa densidade HSD, foi possível observar ganhos de rendimento da ordem de 0,7% a 5,7% em relação à cultivar original. De acordo com Fasoula (2012), está sendo observado, em nível mundial, um decréscimo no ganho genético anual, assim como uma estagnação dos patamares de produtividade alcançados. Toledo et al. (1990), estudando o ganho genético anual de soja nos programas de melhoramento do estado do Paraná, Brasil, entre 1981 e 1986, observaram ganhos genéticos variando entre 1,3 e 1,8%. Pagliosa (2016), avaliando genótipos de soja testados no Paraná entre 1994 a 2001 e 2001 a 2014, observou que não houve ganho genético para a característica rendimento de grãos em ambos períodos. No Brasil, Mezzalira (2017), avaliando o ganho genético de produtividade em cultivares de soja cultivadas nas MRS 3 e 4, nas safras 2006/2007 a 2015/2016, verificaram ganhos genéticos de 0,59% ao ano. Acredita-se que os ganhos em rendimento de grãos vêm diminuindo com o decorrer do tempo em função do alto potencial produtivo já alcançado e da constante utilização do mesmo germoplasma básico nas hibridações (RUBIN; SANTOS, 1996).

Além da variação intracultivar para rendimento de grãos observadas nas linhagens obtidas após dois anos de seleção em ultrabaixa densidade pelo modelo HSD, também foram observadas variações significativas para Altura de planta (AP), Dias para o florescimento (DF), Dias para maturação (DM), Acamamento (AC) e Massa de 100 sementes (M100), dependendo a MRS em que foram testadas (Tabelas 3.5 e 3.7). As linhagens selecionadas dentro da BRS 284 apresentaram porte mais baixo na MRS 3, com amplitude de variação de 6cm, floresceram 7 a 8 dias mais cedo na MRS 1 e 1 a 2 dias mais tarde na MRS 3, foram 3 a 5 dias mais precoces na MRS 1 e 3 dias mais tardias na MRS 3, foram ligeiramente mais acamadoras na MRS 1 e a linhagem 284-9-20-5 obteve maior M100, sempre comparadas com a original. A linhagem 1001-249-8-3, selecionada dentro da BRS 1001IPRO apresentou porte mais baixo, foi ligeiramente mais tardia e apresentou M100 mais baixo que a original na MRS 2, onde foi mais competitiva. Apesar da pequena variação observada nos teores de óleo e proteína, pois não foram objeto de seleção neste trabalho, Fasoula e Boerma (2005) também descobriram variação intracultivar para proteína, óleo e composição de ácidos graxos dentro de cultivares elite de soja.

Fasoula e Boerma (2007) também investigaram a presença de variação para M100, DM, AP e AC, utilizando a metodologia HSD com seleção de plantas individuais em ultrabaixa densidade dentro de cultivares elites de soja. Para peso de sementes a magnitude da variação intracultivar foi em média de 36mg semente<sup>-1</sup> para a cultivar “Benning”, 22 mg semente<sup>-1</sup> para “Cook” e 45 mg semente<sup>-1</sup> para “Haskell”. Com relação a dias para maturação as diferenças foram de 5, 4 e 7 dias para “Benning”, “Cook” e “Haskell” respectivamente. Diferenças significativas também foram encontradas para altura de plantas e acamamento. Esses resultados corroboram com os dados obtidos no presente estudo e permitem concluir que mesmo as cultivares elite podem ser melhoradas para características agronômicas desejáveis. A vantagem em procurar variação intracultivar é devido ao fato das cultivares terem um pool de genes altamente adaptados e com boa performance agronômica.

Outro fator importante a ser analisado é o tempo para desenvolvimento de uma nova cultivar. Em média, os programas de melhoramento de soja demoram entre seis a dez anos para desenvolver e lançar uma nova cultivar comercial, trabalho que, além de demorado, é oneroso. Além disso, as cultivares atuais apresentam baixa longevidade no mercado (TOKATLIDIS, 2015). No presente trabalho, obteve-se ganhos de rendimento em uma ampla gama de locais, em apenas dois anos de seleção em ultrabaixa densidade utilizando o modelo HSD. Considerando que foram mantidas as características descritivas da cultivar original, a exploração da variação intracultivar em curto espaço de tempo, além de possibilitar a melhoria de características agronômicas de interesse, pode aumentar a vida útil das cultivares no mercado.

As cultivares elite de soja tem sido consideradas relativamente homogêneas, ou com variação genética limitada. Nossos resultados sugerem a ocorrência de maior variabilidade do que previamente assumido. A importância em buscar a variação intracultivar é devido às cultivares apresentarem um pool de genes altamente adaptado, com resistência às doenças e com boa performance agronômica, podendo ser melhorado para características agronômicas de interesse.

### 3.5 CONCLUSÕES

A seleção de planta individual em ultrabaixa densidade utilizando o modelo de seleção *Honeycomb Selection Designs* foi efetiva em identificar variação genética intracultivar significativa para rendimento de grãos dentro de cultivares elite de soja, em dois anos de seleção. Além disso foi encontrada variação genética significativa para características agronômicas de interesse.

O maior destaque foi a linhagem 284-32-17-3, que apresentou rendimento de grãos 3,8% e 5,7% superior a cultivar BRS 284, em dez locais na Macrorregião sojícola 1 e em nove locais na Macrorregião sojícola 3, respectivamente. As linhagens 284-85-19-4, 284-9-20-5 e 1001-249-8-3 apresentaram bom desempenho, com rendimento de grãos superior a cultivar original variando de 0,7 a 3,0%.

**Tabela 3.2** – Rendimento de planta individual (g), Porcentagem sobre o rendimento médio de grãos de seis plantas vizinhas (% Viz) e Índice de Rendimento de Planta Individual (PYI) das 30 melhores plantas selecionadas dentro das cultivares BRS 284 e BRS 1001IPRO, em ultrabaixa densidade através do modelo *Honeycomb Selection Designs* sem repetição, em Londrina (LDA) e em Ponta Grossa (PGA), safra 2014/2015.

Nº	BRS 284								BRS 1001IPRO							
	LDA				PGA				LDA				PGA			
	Linagem	Rend	% Viz	PYI	Linagem	Rend	% Viz	PYI	Linagem	Rend	% Viz	PYI	Linagem	Rend	% Viz	PYI
1	<b>284-34*</b>	238	174,9	3,06	<b>284-2*</b>	208	145,9	2,13	<b>1001-62*</b>	182	166,3	2,76	<b>1001-224*</b>	176	155,3	2,41
2	<b>284-363*</b>	244	156,1	2,44	<b>284-37*</b>	209	140,7	1,98	<b>1001-249*</b>	182	159,8	2,56	<b>1001-382*</b>	185	148,4	2,20
3	<b>284-263</b>	232	150,7	2,27	<b>284-378</b>	199	139,0	1,93	<b>1001-133</b>	170	155,0	2,40	<b>1001-235*</b>	193	143,0	2,05
4	<b>284-223*</b>	274	147,1	2,16	<b>284-200*</b>	211	138,2	1,91	<b>1001-333*</b>	224	152,5	2,33	<b>1001-272*</b>	179	137,8	1,90
5	<b>284-22</b>	223	142,5	2,03	<b>284-32*</b>	206	138,3	1,91	<b>1001-319*</b>	187	147,1	2,16	<b>1001-222*</b>	192	137,1	1,88
6	<b>284-292*</b>	240	133,4	1,78	<b>284-220</b>	201	137,5	1,89	<b>1001-21*</b>	202	146,0	2,13	<b>1001-295</b>	168	133,7	1,79
7	<b>284-192</b>	230	133,4	1,78	<b>284-179</b>	191	136,7	1,87	<b>1001-216</b>	177	144,7	2,09	<b>1001-254</b>	172	132,9	1,77
8	<b>284-354</b>	236	133,2	1,77	<b>284-24*</b>	207	135,7	1,84	<b>1001-315</b>	184	143,7	2,06	<b>1001-350</b>	170	132,9	1,77
9	<b>284-383*</b>	256	131,5	1,73	<b>284-187</b>	202	130,8	1,71	<b>1001-369*</b>	201	142,3	2,03	<b>1001-216*</b>	171	130,2	1,70
10	<b>284-287*</b>	276	128,5	1,65	<b>284-316</b>	198	128,7	1,66	<b>1001-24*</b>	198	140,9	1,99	<b>1001-269</b>	179	127,8	1,63
11	<b>284-260*</b>	241	127,2	1,62	<b>284-347</b>	195	128,3	1,65	<b>1001-381</b>	187	141,1	1,99	<b>1001-368</b>	170	127,5	1,63
12	<b>284-93</b>	238	126,9	1,61	<b>284-250</b>	196	128,1	1,64	<b>1001-332</b>	194	136,7	1,87	<b>1001-305</b>	165	127,1	1,62
13	<b>284-226*</b>	255	126,5	1,60	<b>284-67*</b>	210	127,1	1,61	<b>1001-379</b>	168	132,8	1,76	<b>1001-376</b>	164	127,1	1,62
14	<b>284-319</b>	237	126,3	1,59	<b>284-12</b>	201	125,5	1,57	<b>1001-195</b>	171	132,0	1,74	<b>1001-127</b>	168	126,3	1,60
15	<b>284-324*</b>	236	122,7	1,50	<b>284-295</b>	202	123,5	1,53	<b>1001-386</b>	169	130,8	1,71	<b>1001-182</b>	166	126,1	1,59
16	<b>284-229</b>	226	122,5	1,50	<b>284-9*</b>	202	121,7	1,48	<b>1001-371</b>	177	127,9	1,64	<b>1001-298</b>	167	125,7	1,58
17	<b>284-159</b>	232	121,0	1,46	<b>284-7</b>	190	119,5	1,43	<b>1001-355*</b>	199	126,8	1,61	<b>1001-165*</b>	181	124,1	1,54
18	<b>284-157</b>	230	118,8	1,41	<b>284-234</b>	193	119,3	1,42	<b>1001-219*</b>	180	127,0	1,61	<b>1001-131*</b>	194	123,1	1,51
19	<b>284-94</b>	226	118,7	1,41	<b>284-212</b>	190	119,2	1,42	<b>1001-364</b>	174	125,2	1,57	<b>1001-244*</b>	179	123,1	1,51
20	<b>284-132</b>	245	118,2	1,40	<b>284-120*</b>	206	118,9	1,41	<b>1001-323</b>	185	122,7	1,50	<b>1001-200</b>	172	122,6	1,50
21	<b>284-27</b>	225	118,4	1,40	<b>284-8*</b>	206	117,2	1,37	<b>1001-396</b>	170	120,4	1,45	<b>1001-190</b>	168	122,0	1,49
22	<b>284-290*</b>	250	116,2	1,35	<b>284-85*</b>	203	117,1	1,37	<b>1001-176*</b>	197	120,1	1,44	<b>1001-157*</b>	192	121,3	1,47
23	<b>284-348</b>	234	115,9	1,34	<b>284-137</b>	195	116,9	1,37	<b>1001-175</b>	182	117,8	1,39	<b>1001-292</b>	169	120,4	1,45
24	<b>284-285</b>	225	115,9	1,34	<b>284-77</b>	192	117,2	1,37	<b>1001-76</b>	175	117,4	1,38	<b>1001-176</b>	170	117,6	1,38
25	<b>284-386</b>	241	115,4	1,33	<b>284-186</b>	188	114,9	1,32	<b>1001-337</b>	178	115,7	1,34	<b>1001-197</b>	176	115,1	1,33
26	<b>284-227</b>	234	113,1	1,28	<b>284-88</b>	195	114,3	1,31	<b>1001-42</b>	170	115,6	1,34	<b>1001-177</b>	171	115,0	1,32
27	<b>284-225</b>	234	107,0	1,15	<b>284-235</b>	195	113,0	1,28	<b>1001-335</b>	176	115,3	1,33	<b>1001-267</b>	167	114,3	1,31
28	<b>284-259</b>	239	106,1	1,13	<b>284-183</b>	189	112,6	1,27	<b>1001-349</b>	172	115,1	1,32	<b>1001-133</b>	165	111,7	1,25
29	<b>284-258</b>	230	101,7	1,04	<b>284-104</b>	197	107,7	1,16	<b>1001-339</b>	169	110,0	1,21	<b>1001-268</b>	173	110,5	1,22
30	<b>284-288</b>	227	96,4	0,93	<b>284-105</b>	188	104,7	1,10	<b>1001-350</b>	168	101,7	1,04	<b>1001-188</b>	165	106,3	1,13
	N	355			356			356			354					
	$\bar{X}$ (g)	172,7			154,0			131,4			130,2					
	CV%	19,8			16,1			20,8			19,4					

\*Plantas selecionadas para a próxima safra.

$PYI = (x/\bar{x}_r)^2$  é o Índice de Rendimento de Planta Individual, onde o  $x$  corresponde à produtividade de cada planta individual, e o  $\bar{x}_r$  corresponde à média de produtividade de plantas vizinhas.

**Tabela 3.3** - Rendimento de planta individual (g), Índice de produtividade de planta (*PYI*) Índice de estabilidade (*SI*) e Equação de Prognóstico de Planta (*pPE*), de plantas selecionadas dentro da cultivar BRS 284, em Londrina(LDA) e Ponta Grossa(PGA), safra 2015/16.

<b>BRS 284</b>										
Nº	Linhagem	LDA				PGA				
		Rend	<i>PYI</i>	<i>SI</i>	<i>pPE</i>	Linhagem	Rend	<i>PYI</i>	<i>SI</i>	<i>pPE</i>
1	<b>284-223-2*</b>	141,0	2,08	46,94	97,86	<b>284-85-19*</b>	144,5	2,22	101,29	225,27
2	<b>284-223-2*</b>	129,0	1,60	46,94	75,31	<b>284-85-19*</b>	148,5	1,84	101,29	186,82
3	<b>284-260-7</b>	174,5	2,15	34,17	73,39	<b>284-85-19*</b>	191,0	1,67	101,29	169,12
4	<b>284-383-3</b>	143,0	1,53	45,72	69,92	<b>284-85-19*</b>	158,0	1,62	101,29	164,24
5	<b>284-223-2*</b>	182,5	1,46	46,94	68,59	<b>284-85-19*</b>	174,5	1,52	101,29	154,40
6	<b>284-223-2*</b>	165,5	1,44	46,94	67,79	<b>284-85-19*</b>	168,0	1,49	101,29	150,43
7	<b>284-260-7</b>	214,0	1,97	34,17	67,27	<b>284-85-19*</b>	178,0	1,47	101,29	149,31
8	<b>284-324-10*</b>	166,5	2,01	33,01	66,51	<b>284-85-19*</b>	147,5	1,36	101,29	137,62
9	<b>284-223-2*</b>	161,5	1,40	46,94	65,95	<b>284-85-19*</b>	188,0	1,36	101,29	137,56
10	<b>284-223-2*</b>	139,5	1,40	46,94	65,91	<b>284-85-19*</b>	155,5	1,23	101,29	124,96
11	<b>284-383-3</b>	159,5	1,40	45,72	64,16	<b>284-85-19*</b>	194,0	1,23	101,29	124,36
12	<b>284-292-8</b>	172,0	1,75	34,57	60,40	<b>284-9-20*</b>	192,5	2,96	40,02	118,33
13	<b>284-260-7</b>	182,0	1,77	34,17	60,34	<b>284-324-10*</b>	174,0	2,67	43,44	116,09
14	<b>284-383-3</b>	153,0	1,32	45,72	60,13	<b>284-85-19*</b>	161,0	1,10	101,29	111,03
15	<b>284-383-3</b>	153,0	1,31	45,72	60,02	<b>284-32-17*</b>	206,5	2,85	38,00	108,38
16	<b>284-34-9</b>	170,5	1,90	31,00	58,80	<b>284-85-19*</b>	166,0	1,01	101,29	102,70
17	<b>284-37-13</b>	162,5	1,65	35,35	58,26	<b>284-85-19*</b>	160,5	0,97	101,29	98,52
18	<b>284-37-13</b>	143,0	1,64	35,35	58,07	<b>284-85-19*</b>	154,0	0,96	101,29	97,23
19	<b>284-34-9</b>	195,5	1,83	31,00	56,83	<b>284-85-19*</b>	141,5	0,95	101,29	96,46
20	<b>284-324-10*</b>	175,5	1,72	33,01	56,65	<b>284-85-19*</b>	146,0	0,94	101,29	95,24
21	<b>284-223-2*</b>	155,5	1,20	46,94	56,14	<b>284-85-19*</b>	163,0	0,93	101,29	94,01
22	<b>284-223-2*</b>	145,5	1,17	46,94	54,80	<b>284-9-20*</b>	212,0	2,31	40,02	92,62
23	<b>284-223-2*</b>	158,0	1,17	46,94	54,69	<b>284-226-4</b>	206,5	5,53	16,16	89,28
24	<b>284-260-7</b>	152,5	1,59	34,17	54,48	<b>284-9-20*</b>	163,0	2,18	40,02	87,14
25	<b>284-34-9</b>	138,0	1,74	31,00	54,06	<b>284-324-10*</b>	198,5	1,98	43,44	86,00
26	<b>284-120-18</b>	169,0	1,73	30,51	52,77	<b>284-200-11</b>	176,0	3,00	28,62	85,78
27	<b>284-223-2*</b>	142,5	1,11	46,94	51,92	<b>284-8-16</b>	216,0	3,38	25,20	85,24
28	<b>284-383-3</b>	137,0	1,13	45,72	51,87	<b>284-2-14</b>	192,0	2,31	35,82	82,60
29	<b>284-324-10*</b>	176,5	1,55	33,01	51,12	<b>284-2-14</b>	186,0	2,24	35,82	80,19
30	<b>284-260-7</b>	175,5	1,49	34,17	51,06	<b>284-324-10*</b>	202,5	1,79	43,44	77,59
N		399				371				
$\bar{X}$		134,5				160,1				
CV%		20,0				20,2				

\*Plantas selecionadas para a próxima safra.

$PYI = (x/\bar{x}_r)^2$  é o Índice de produtividade de planta, onde o  $x$  corresponde à produtividade de cada planta individual, e o  $\bar{x}_r$  corresponde à média de produtividade de plantas vizinhas;  $SI = (\bar{x}_g/s)^2$  é o Índice de estabilidade, onde  $\bar{x}_g$  é a produtividade média de cada família (plantas originadas da mesma mãe) e  $s$  o desvio padrão de cada família; e  $pPE = PYI.SI$  é a Equação de Prognóstico de Planta.

**Tabela 3.4** - Rendimento de planta individual (g), Índice de produtividade de planta (*PYI*) Índice de estabilidade (*SI*) e Equação de Prognóstico de Planta (*pPE*), de plantas selecionadas dentro da cultivar BRS 1001IPRO, em Londrina (LDA) e Ponta Grossa (PGA), safra 2015/16.

<b>BRS 1001IPRO</b>										
Nº	Linhagem	LDA				PGA				
		Rend	<i>PYI</i>	<i>SI</i>	<i>pPE</i>	Linhagem	Rend	<i>PYI</i>	<i>SI</i>	<i>pPE</i>
1	1001-319-7	135,0	4,03	36,38	146,78	1001-249-8*	145,5	2,45	54,74	134,18
2	1001-319-7	136,0	3,40	36,38	123,71	1001-249-8*	139,0	1,85	54,74	101,11
3	1001-176-6	132,0	5,20	23,74	123,52	1001-382-15	148,5	2,23	45,03	100,47
4	1001-165-16*	125,0	2,82	42,48	119,85	1001-382-15	161,5	1,98	45,03	89,31
5	1001-319-7	150,0	3,04	36,38	110,56	1001-382-15	147,5	1,96	45,03	88,30
6	1001-319-7	104,0	2,89	36,38	105,31	1001-244-17*	135,0	1,76	49,88	87,99
7	1001-319-7	131,5	2,89	36,38	105,24	1001-62-9	170,0	2,46	35,08	86,45
8	1001-319-7	165,5	2,80	36,38	101,79	1001-249-8*	132,0	1,49	54,74	81,77
9	1001-235-12	128,5	3,00	32,69	98,01	1001-249-8*	150,0	1,48	54,74	81,24
10	1001-319-7	124,0	2,66	36,38	96,63	1001-222-13	144,0	2,06	38,71	79,74
11	1001-165-16*	99,0	2,24	42,48	95,27	1001-355-4	154,5	2,48	31,52	78,05
12	1001-235-12	113,0	2,91	32,69	95,27	1001-382-15	136,0	1,73	45,03	77,78
13	BRS 1001 IPRO	147,5	3,46	27,48	95,21	1001-62-9	145,0	2,20	35,08	77,30
14	1001-244-17*	105,5	2,88	32,73	94,23	1001-21-2	162,5	2,19	34,56	75,75
15	1001-224-19	153,5	4,93	17,95	88,55	1001-249-8*	134,5	1,38	54,74	75,42
16	1001-319-7	125,0	2,43	36,38	88,54	1001-333-1	156,5	2,28	32,30	73,76
17	BRS 1001 IPRO	123,5	3,13	27,48	86,01	1001-249-8*	114,0	1,35	54,74	73,63
18	1001-165-16*	85,0	2,00	42,48	85,07	1001-24-5	145,0	1,94	37,72	73,32
19	1001-244-17	136,0	2,54	32,73	83,02	1001-244-17*	131,0	1,45	49,88	72,49
20	1001-176-6	152,5	3,47	23,74	82,42	1001-24-5	139,5	1,92	37,72	72,46
21	1001-131-11	140,5	3,47	23,37	81,16	1001-249-8*	115,0	1,30	54,74	71,07
22	1001-319-7	138,0	2,22	36,38	80,90	1001-382-15	155,0	1,57	45,03	70,78
23	1001-235-12	144,0	2,46	32,69	80,49	1001-244-17*	139,0	1,41	49,88	70,58
24	1001-131-11	121,0	3,42	23,37	79,85	1001-244-17*	129,5	1,39	49,88	69,55
25	1001-24-5	123,5	2,43	32,57	79,17	1001-244-17*	121,0	1,39	49,88	69,17
26	1001-319-7	133,5	2,13	36,38	77,51	1001-244-17*	115,0	1,38	49,88	68,83
27	1001-165-16*	115,5	1,79	42,48	76,21	1001-333-1	164,5	2,12	32,30	68,45
28	1001-382-15	176,0	5,11	14,86	75,90	1001-382-15	130,0	1,52	45,03	68,40
29	1001-216-20	121,0	3,17	23,78	75,42	1001-249-8*	122,0	1,24	54,74	67,76
30	1001-244-17*	119,0	2,30	32,73	75,38	1001-244-17*	116,5	1,36	49,88	67,70
N		335					394			
$\bar{X}$		106,0					118,8			
CV%		23,3					18,6			

\*Plantas selecionadas para a próxima safra.

$PYI = (x/\bar{x}_r)^2$  é o Índice de produtividade de planta, onde o  $x$  corresponde à produtividade de cada planta individual, e o  $\bar{x}_r$  corresponde à média de produtividade de plantas vizinhas;  $SI = (\bar{x}_g/s)^2$  é o Índice de estabilidade, onde  $\bar{x}_g$  é a produtividade média de cada família (plantas originadas da mesma mãe) e  $s$  o desvio padrão de cada família; e  $pPE = PYI.SI$  é a Equação de Prognóstico de Planta.

**Tabela 3.5** - Produtividade média de grãos e características agrônômicas de linhagens de soja selecionadas dentro da cultivar BRS 284, em ultrabaixa densidade, através do modelo *Honeycomb Selection Designs*, comparadas à cultivar original, nas Macrorregiões Sojícolas 1, 2 e 3 nas safras 2016/2017 e 2017/18.

<b>Macro 1</b>							
Linhagem	Rend	%	AP	DF	DM	AC	M100
284-32-17-3	5866a	103,8	107a	43c	126c	2,53a	18,23a
284-85-19-4	5820ab	103,0	108a	44b	128b	2,68a	18,09a
BRS 284	5650b	100,0	110a	51a	131a	2,19b	18,14a
Média	5779		108	46	129	2,47	18,15
CV%	6,26		5,55	2,68	1,25	8,51	4,19
<b>Macro 2</b>							
Linhagem	Rend	%	AP	DF	DM	AC	M100
284-9-20-5	4846a	101,7	90a	-	119a	1,85a	15,10a
BRS 284	4764a	100,0	90a	-	119a	1,95a	14,85b
Média	4805		90	-	119	1,90	14,98
CV%	8,25		7,18	-	1,37	12,61	4,24
<b>Macro 3</b>							
Linhagem	Rend	%	AP	DF	DM	AC	M100
284-32-17-3	4309a	105,7	79b	33b	110a	1,47a	16,49a
284-85-19-4	4107a	100,7	79b	35a	110a	1,47a	16,51a
BRS 284	4076a	100,0	85a	32c	107b	1,53a	16,34a
Média	4164		81	33	109	1,49	16,45
CV%	11,19		7,95	0,86	0,83	9,20	4,04

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

Rend: rendimento em kg ha<sup>-1</sup>; %: porcentagem em relação à cultivar original; AP: altura de planta (cm); DF: dias para o florescimento; DM: dias para maturação; AC: acamamento (%); M100: massa de 100 sementes (g).

**Tabela 3.6** – Teores médios de óleo e proteína de linhagens de soja selecionadas dentro das cultivares BRS 284 e BRS 1001IPRO, em ultrabaixa densidade através do modelo *Honeycomb Selection Designs* durante dois anos (safra 2014/15 e 2015/16) e em um ensaio de competição (safra 2016/17), comparados às cultivares originais.

Genótipos	Óleo (%)				Proteína (%)			
	2014/15	2015/16	2016/17	Média	2014/15	2015/16	2016/17	Média
<b>BRS 284</b>								
BRS 284	-	22,57ab	23,07a	22,82a	-	36,86b	36,39a	36,62a
284-223-2-1	24,57a	22,10bc	22,74a	23,14a	36,05a	38,39a	37,17a	37,20a
284-324-10-2	26,35a	21,71c	23,39a	23,82a	36,37a	37,25ab	36,55a	36,72a
284-32-17-3	24,96a	22,12bc	23,14a	23,41a	36,19a	38,41a	36,84a	37,15a
284-85-19-4	24,46a	22,79a	22,79a	23,35a	34,76a	37,67ab	36,45a	36,29a
284-9-20-5	24,66a	21,62c	22,94a	23,07a	34,71a	37,88ab	36,74a	36,44a
<b>BRS 1001 IPRO</b>								
BRS 1001 IPRO	-	21,31bc	29,33a	25,32a	-	38,22b	40,04a	39,13a
1001-249-8-3	26,70a	22,20a	22,61a	23,84a	34,16b	38,36b	36,90a	36,47a
1001-165-16-4	24,27b	20,90c	22,03a	22,40a	37,10a	39,50a	37,30a	37,97a
1001-244-17-5	25,73a	21,71ab	21,73a	23,06a	36,40a	38,35b	37,08a	37,28a

\*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 3.7** – Produtividade média de grãos e características agronômicas de três linhagens de soja selecionadas dentro da cultivar BRS 1001IPRO, em ultrabaixa densidade, através do método *Honeycomb Selection Designs*, comparados à cultivar original, nas Macrorregiões Sojícolas 2 e 3, na safra 2016/2017.

<b>Macro 2</b>							
Genótipo	Rend	%	AP	DM	AC	M100	
1001-249-8-3	4376,0a	101,2	86b	112a	1,59b	15,8b	
1001-244-17-5	4270,1ab	98,8	90a	112a	1,88ab	16,1b	
1001-165-16-4	4164,7b	96,3	91a	111ab	1,99a	15,9b	
BRS 1001IPRO	4324,1ab	100,0	92a	111b	1,76ab	16,5a	
Média	4284		90	112	1,81	16,1	
CV %	21,23		15,99	7,49	25,03	16,75	
<b>Macro 3</b>							
Genótipo	Rend	%	AP	DF	DM	AC	P100
1001-165-16-4	4406,8a	99,5	75a	32c	107c	1,71a	18,2c
1001-249-8-3	4393,7a	99,2	69b	34a	109a	1,38b	18,7bc
1001-244-17-5	4321,9a	97,5	75a	32c	108b	1,54ab	19,4a
BRS1001IPRO	4430,5a	100,0	75a	33b	108b	1,58ab	19ab
Média	4388		74	33	108	1,55	18,8
CV %	15,10		14,06	6,60	4,37	29,36	11,49

Rend: rendimento em kg ha<sup>-1</sup>; %: porcentagem em relação à cultivar original; AP: altura de planta (cm); DF: dias para o florescimento; DM: dias para maturação; AC: acamamento (%); M100: massa de 100 sementes (g). Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

## 3.6 REFERÊNCIAS

- ALLIPRANDINI, L. F.; TOLEDO, J. F. F.; FONSECA JUNIOR, N. S.; KIIHL, R. A. S. Ganho genético em soja no Estado do Paraná, via melhoramento no período de 1985/86 a 1989/90. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 489-497, 1993.
- ALMEIDA, L. A.; KIIHL, R. A. S.; MIRANDA, M. A. C.; CAMPELO, G. J. A. Melhoramento da soja para regiões de baixas latitudes. In: QUEIROZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o nordeste brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido/ Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999.
- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação Agrícola**. 4.ed. FUNEP: Jaboticabal, 2015. 237p.
- CELERES. **3º levantamento de adoção da biotecnologia agrícola no Brasil, safra 2016/17**. 2017. Disponível em:< <http://www.celeres.com.br/3o-levantamento-de-adocao-da-biotecnologia-agricola-no-brasil-safra-201617/>>. Acesso em: 10 nov 2018.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileiro de grãos – Safra 2017/18**. Oitavo Levantamento. Conab, v. 5, n. 8, 2018. 140p.
- EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Tecnologias de produção de soja – Região Central do Brasil 2014**. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 268p. (Sistemas de Produção/Embrapa Soja, n. 16).
- EMBRAPA SOJA. **Portifólio Embrapa de cultivares de soja**, 2016. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/soja/>>. Acesso em: 21 out 2018.
- FASOULA, D. A. Correlations between auto-, allo- and nil competition and their implications in plant breeding. **Euphytica**, v. 50, p. 57–62, 1990.
- FASOULA, D. A. Nonstop selection for high and stable crop yield by two prognostic equations to reduce yield losses. **Agriculture**, v. 2, p. 211-227, 2012.
- FASOULA, D. A.; FASOULA, V. A. Competitive ability and plant breeding. **Plant Breeding Reviews**, v. 14, p. 89–138, 1997.
- FASOULA, V. A. Prognostic breeding: A new paradigm for crop improvement. **Plant Breeding Reviews**, v. 37, p. 297-347, 2013.

- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R. Selection at ultra-low plant density for high yield per plant within elite soybean cultivars. ASA-CSSA-SSSA International Annual Meetings , Salt Lake City, Utah, USA.. Nov 6-10, 2005a.
- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R. Divergent selection at ultra-low plant density for seed protein and oil content within soybean cultivars. **Field Crops Research**, v. 91, p. 217–229, 2005b.
- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R. Intra-cultivar variation for seed weight and other agronomic traits within three elite soybean cultivars. **Crop Science**, v. 47, p. 367–373, 2007.
- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R.; YATES, J. L.; WALKER, D. R.; FINNERTY, S. L.; ROWAN, G. B.; WOOD, E. D. Registration of five soybean germplasm lines selected within the cultivar ‘Benning’ differing in seed and agronomic traits. **Journal of Plant Registrations**, v. 1, p. 156-157, 2007a.
- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R.; YATES, J. L.; WALKER, D. R.; FINNERTY, S. L.; ROWAN, G. B.; WOOD, E. D. Registration of seven soybean germplasm lines selected within the cultivar ‘Cook’ differing in seed and agronomic traits. **Journal of Plant Registrations**, v. 1, p. 158-159, 2007b.
- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R.; YATES, J. L.; WALKER, D. R.; FINNERTY, S. L.; ROWAN, G. B.; WOOD, E. D. Registration of six soybean germplasm lines selected within the cultivar ‘Haskell’ differing in seed and agronomic traits. **Journal of Plant Registrations**, v. 1, p. 160-161, 2007c.
- FASOULA, V. A.; FASOULA, D. A. Honeycomb breeding: principles and applications. **Plant Breeding Reviews**, v. 18, p. 177-250, 2000.
- FASOULAS, A.C.; FASOULA, V. A. Honeycomb selection designs. **Plant Breed Rev.**, v. 13, p. 87–139, 1995.
- GREVENIOTIS, V.; FASOULA, V. A. Application of prognostic breeding in maize. **Crop & Pasture Science**, v. 67, p. 605-620, 2016.
- GREVENIOTIS, V.; XANTHOPOULOU, O., PESSIOS, E.; DELIGEORGIDIS, P.; STEFANIS, D.; IPSILANDIS, C.G. honeycomb evaluation of barley germplasm under pre-evaluated environments. **Cereal Research Communications**, v. 37, n. 4, p. 567–574, 2009.
- KASTER, M.; FARIAS, J. R. B. **Regionalização dos testes de Valor de Cultivo e Uso e da indicação de cultivares de soja – Terceira Aproximação**. Documentos/ Embrapa Soja, n.330, Londrina: Embrapa Soja, 2012, 69 p.

- LANGE, C. E.; FEDERIZZI, L. C. Estimation of soybean genetic progress in the south of Brazil using multienvironmental yield trials. **Scientia Agricola**, v. 66, n. 3, p. 309-316, 2009.
- LEITE, P.R.S.C.; MENDES, F.R.; PEREIRA, M.L.R.; LACERDA, M.J.R. Limitações da utilização da soja integral e farelo de soja na nutrição de frangos de corte. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 15, p. 1138-1157, 2012.
- MEZZALIRA, I. **Ganho genético para produtividade de grãos de soja na região central do Brasil**. 2017. 44 f. Dissertação (Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.
- PAGLIOSA, E. S. **Ganho genético em soja na região meridional do Brasil**. 2016. 121 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.
- PRIMOMO, V.S.; FALK, D.E.; ABLETT, G.R.; TANNER, J.W.; RAJCAN, I. Genotype × environment interactions, stability, and agronomic performance of soybean with altered fatty acid profiles. **Crop Science**. v. 42, n. 1, p. 37-44. 2002.
- R CORE TEAM (2016). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- RASMUSSEN, D. C.; PHILLIPS, R. L. Plant breeding progress and genetic diversity from de novo variation and elevated epistasis. **Crop Science**, v.37, p.303-310, 1997.
- RUBIN, S. A. L.; SANTOS, O. S. Progresso do melhoramento genético de soja no estado do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 2, p. 139-147, 1996.
- SEDIYAMA, T. **Tecnologias de produção e usos da soja**. Londrina: Mecenaz, 2009. 314 p.
- SPRAGUE, G. F.; RUSSEL, W. A.; PENNY, L. H. Mutations affecting quantitative traits in selfed progeny of double monoplloid maize stocks. **Genetics**, v. 45, p. 855-865, 1960.
- TOKATLIDIS, I. S. Conservation breeding of elite cultivars. **Crop Science**, v. 55, p. 1-18, 2015.
- TOKATLIDIS, I. S.; TSIKRIKONI, C.; LITHOURGIDIS, A. S.; TSIALTAS, J. T.; TZANTARMAS, C. Intra-cultivar variation in cotton: response to single plant yield selection at low density. **Journal of Agricultural Science**, v. 149, p. 197–204, 2011.
- TOKATLIDIS, I.S.; TSIALTAS, J.T.; XYNIAS, I.N.; TAMOUTSIDIS, E.; IRAKLI, M. Variation within a bread wheat cultivar for grain yield, protein content, carbon isotope discrimination and ash content. **Field Crops Research**., v. 86, p. 33–42, 2004.
- TOLEDO, J. F. F.; ALMEIDA, L. A.; KIIHL, R. A. S.; MENOSSO, M. G. Ganho genético em soja no Estado do Paraná, via melhoramento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 25, p. 89-94, 1990.

USDA, 2018. **World Agricultural Supply and Demand Estimates**. Disponível em: <[https://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/Secretary\\_Briefing.pdf](https://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/Secretary_Briefing.pdf)>. Acesso em 06 ago 2018.

YATES, J. L.; BOERMA, R.; FASOULA, V. A. SSR-marker analysis of the intracultivar phenotypic variation discovered within 3 soybean cultivars. **Journal of Heredity**, v. 103, n. 4, p. 570–578, 2012.

#### 4 ARTIGO B – EXPLORAÇÃO DA VARIAÇÃO INTRACULTIVAR EM SOJA ATRAVÉS DO MODELO DE SELEÇÃO *HONEYCOMB SELECTION DESIGNS*

##### RESUMO

O desenvolvimento de novas cultivares de soja mais produtivas e estáveis é uma atividade demorada e onerosa, além de que, em longo prazo, cultivares elite podem perder sua identidade genética e ter a produtividade reduzida. Desta forma, a metodologia de seleção em ultrabaixa densidade *Honeycomb Selection Designs* (HSD), permite uma exploração eficiente da variação intracultivar presente nas cultivares elite, proporcionando a seleção de genótipos mais produtivos e permitindo uma prolongação da vida útil das cultivares comerciais no mercado. O objetivo do trabalho foi explorar a variação genética intracultivar nas cultivares de soja BRS 257 e UEL 175, desprovidas de lipoxigenases, através da seleção em ultrabaixa densidade pelo modelo HSD, buscando selecionar genótipos mais produtivos. Plantas individuais das duas cultivares comerciais de soja foram cultivadas em ultrabaixa densidade ( $1,0 \text{ planta m}^{-2}$ ), em dois locais, durante duas safras. Na safra 2014/15, 400 plantas foram cultivadas utilizando o modelo HSD sem repetição. De acordo com o rendimento de planta individual, porcentagem sobre as plantas vizinhas e Índice de Produtividade de Planta ( $PYI = (x/\bar{x}_r)^2$ ), 20 plantas de cada cultivar, dez de cada local, foram selecionadas para avaliação na safra 2015/16 utilizando o modelo HSD R-21 com repetição. A partir dos valores de Índice de Produtividade de Planta ( $PYI$ ), Índice de Estabilidade ( $SI$ ) e valores da equação de prognóstico de planta ( $pPE$ ), três linhagens de cada cultivar foram selecionadas e avaliadas sob competição ( $320.000 \text{ plantas ha}^{-1}$ ) na safra 2016/17. A linhagem 175-122-12-3 apresentou rendimento médio numericamente superior em 5,6% à cultivar original, quando avaliada sob competição ( $320.000 \text{ plantas ha}^{-1}$ ), em seis diferentes ambientes de avaliação. A mesma linhagem apresentou diferença estatística significativa para outras características, sendo mais tardia e apresentando uma maior massa de 100 grãos que a cultivar original. Também foi observada variação genética intracultivar significativa para dias para o florescimento e massa de 100 grãos entre as linhagens selecionadas dentro da cultivar BRS 257 quando comparadas com a original. Quanto ao rendimento de grãos, as linhagens não diferiram da cultivar original. A seleção de plantas individuais pelo modelo HSD foi eficiente na identificação de variação genética intracultivar significativa dentro de cultivares elite de soja; contudo, um maior número de linhagens deve ser avaliado sob competição, principalmente se o objetivo for ganhos de rendimento.

**Palavras-chave:** *Glycine max* (L.) Merrill. Melhoramento *Honeycomb*. Melhoramento de Soja. Resposta à Seleção. Ausência de Competição. BRS 257 e UEL 175.

#### ABSTRACT

The development of more productive and stable soybean cultivars is a time-consuming and costly activity, and in the long term, elite cultivars can lose their genetic identity and have reduced grain yield. In this way, the ultra-low-density selection methodology Honeycomb Selection Designs (HSD), allows an efficient exploration of the intracultivar variance present in the elite cultivars, providing the selection of more productive genotypes and allowing an extension of the useful life of the commercial cultivars in the market. This work aimed to explore the intracultivar genetic variation in the soybean cultivars BRS 257 and UEL 175, lacking lipoxigenase, through ultra-low-density selection by the HSD model, in order to select more productive genotypes. Individual plants of the two commercial soybean cultivars were grown in ultra-low density (1.0 plant m<sup>-2</sup>), in two locations, during two crop seasons. In 2014/15, 400 plants were grown using the HSD model without repetition. According to the individual plant yield, percentage on neighboring plants and Plant Yield Index ( $PYI = (x/\bar{x}_r)^2$ ), 20 plants of each cultivar, ten of each site, were selected for evaluation in 2015/16 using the HSD R-21 model with repetition. From the values of Plant Yield Index (*PYI*), Stability Index (*SI*) and values of the plant prognostic equation (*pPE*), three lines of each cultivar were selected and evaluated under competition (320,000 plants ha<sup>-1</sup>) in 2016/17. The line 175-122-12-3 presented a numerical average yield 5.6% higher than the original cultivar, when evaluated under competition (320,000 plants ha<sup>-1</sup>), in six different environments. The same line presented a significant statistical difference for other characteristics, being later and presenting a greater mass of 100 grains than the original cultivar. Significant intracultivar genetic variation was also observed for days for flowering and mass of 100 grains among the selected lines within the BRS 257 cultivar when compared to the original one. Regarding grain yield, the lines did not differ from the original cultivar. The selection of individual plants by the HSD model was efficient in identifying significant intracultivar genetic variation within elite soybean cultivars; however, a greater number of lines should be evaluated under competition, especially if the aim is yield gains.

**Key words:** *Glycine max* (L.) Merrill. Honeycomb Breeding. Soybean Breeding. Response to selection. Null competition. BRS 257 and UEL 175.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de cultivares elite melhoradas é uma atividade demorada e onerosa. Sendo assim, a forma como o genótipo é melhorado e conservado ao longo dos anos é de suma importância. Teoricamente, cultivares monogenóticas (linhagens puras e seus híbridos) são geneticamente homogêneas e estáveis. Essas cultivares geralmente são tratadas como registros permanentes com variação genética limitada ou insignificante (YATES et al., 2012), não sendo empregados esforços visando melhorar suas características agronômicas, uma vez que a cultivar é considerada como estável (PARLEVLIET, 2007).

Sabe-se que, em longo prazo, cultivares elite amplamente cultivadas por agricultores podem perder sua identidade genética, assim como ter a produtividade reduzida. Forças contaminantes e degradantes tais como fecundação cruzada, plantas voluntárias, mistura física, seleção natural, mutações e doenças transmitidas por sementes, são a base desta degradação (LAVERACK, 1994; PARLEVLIET, 2007). Mecanismos genéticos e epigenéticos que geram uma nova variabilidade, conhecida como variação “de novo”, também podem resultar em uma variação intracultivar considerável, sendo que características ambientais, incluindo as provocadas por mudanças climáticas, podem acelerar a taxa de alteração do genoma de forma negativa (RASMUSSEN; PHILLIPS, 1997).

Numerosos estudos indicaram a existência de uma variação fenotípica intracultivar significativa em diversas culturas (SPRAGUE et al., 1960; BYTH; WEBER, 1968; TOKATLIDIS et al., 2004; FASOULA; BOERMA, 2005), todavia, esta variabilidade tem sido pouco explorada pelos programas de melhoramento. Neste contexto, Fasoulas e Fasoula (1995), adaptado por Fasoula (2013), propuseram uma metodologia alternativa de seleção de plantas denominada *Honeycomb Selection Designs* (HSD) que consiste na seleção de plantas na ausência de competição, de forma que as plantas possam expressar o seu potencial real, assim como na diminuição do efeito da heterogeneidade do solo, através da disposição equidistante das plantas no campo e do particionamento do potencial produtivo em dois componentes principais: produtividade e estabilidade. Segundo Fasoula (2012), a metodologia permite uma exploração mais eficiente da variação intracultivar, proporcionando a seleção de genótipos mais produtivos, dentro de cultivares consideradas homogêneas, permitindo uma prolongação da vida útil das cultivares comerciais no mercado.

Uma grande gama de dados em sido publicados evidenciando a presença de variação intracultivar em várias culturas tais como trigo, cevada, feijão, algodão e milho

(FASOULA, 1990; FASOULA; FASOULA, 2000; TOKATLIDIS et al., 2004; GREVENIOTIS et al., 2009; TOKATLIDIS et al., 2010; FASOULA, 2012; GREVENIOTIS; FASOULA, 2016). Em soja, a presença de variação genética intracultivar já foi comprovada para características como teor de óleo e proteína, composição de ácidos graxos (FASOULA; BOERMA, 2005b), massa de sementes, dias para a maturação, peso de planta, acamamento (FASOULA; BOERMA, 2007) e produtividade (FASOULA; BOERMA, 2005a). Fasoula e Boerma (2005a), avaliando linhagens de soja selecionadas em ultrabaixa densidade usando o modelo HSD, durante dois anos, dentro da cultivar de soja “Haskell”, observaram que as linhagens 12 e 18 foram superiores em produtividade em 5 e 4%, respectivamente, quando comparadas com a cultivar original, quando avaliadas em 17 locais, sob competição, durante quatro anos.

No Brasil, para a cultura da soja, trabalhos científicos atribuem ganhos genéticos médios de produtividade da ordem de 0,59 % a 3,5% ao ano (TOLEDO et al., 1990; ALLIPRANDINI et al., 1993; LANGE; FEDERIZZI, 2009; PAGLIOSA, 2016; MEZZALIRA, 2017). Sendo assim, observa-se que os ganhos de rendimentos conseguidos na seleção intracultivar, na ausência de competição, são superiores aos ganhos genéticos médios relatados na literatura; portanto, é desejável explorar qualquer variabilidade latente ou criada de novo e remover qualquer variação indesejada dentro das cultivares de soja. Esse aspecto se torna relevante quando se trata de cultivares convencionais, que tem menor apelo comercial, pois a estratégia pode disponibilizar genótipos mais produtivos em curto espaço de tempo, aproveitando o *pool* de genes altamente adaptado dessas cultivares.

Além do aumento na produtividade, atualmente, também há uma preocupação com relação às características sensoriais dos grãos de soja, uma vez que o consumo da oleaginosa pode trazer benefícios à saúde – reduzir riscos de doenças cardiovasculares, osteoporose, alguns tipos de câncer, além de diminuir o nível de colesterol – o que gerou um crescimento na demanda pelo consumo de alimentos à base de soja (MESSINA; GARDNER; BARNES, 2002; KINNEY, 2003; SILVA et al, 2007; SEDIYAMA, 2009). A aceitação sensorial destes alimentos pode se prejudicada por sabores que se desenvolvem nos grãos durante o seu processamento. Os consumidores tradicionais de soja, como as populações orientais, estão habituados a alguns sabores e aromas característicos da soja que são considerados indesejáveis pelos ocidentais. As enzimas lipoxigenases são responsáveis por atribuir um sabor de “feijão cru” (“beany flavour”) aos grãos, necessitando ser rapidamente inativadas pelo calor durante o processamento (MENEGUCE et al., 2005).

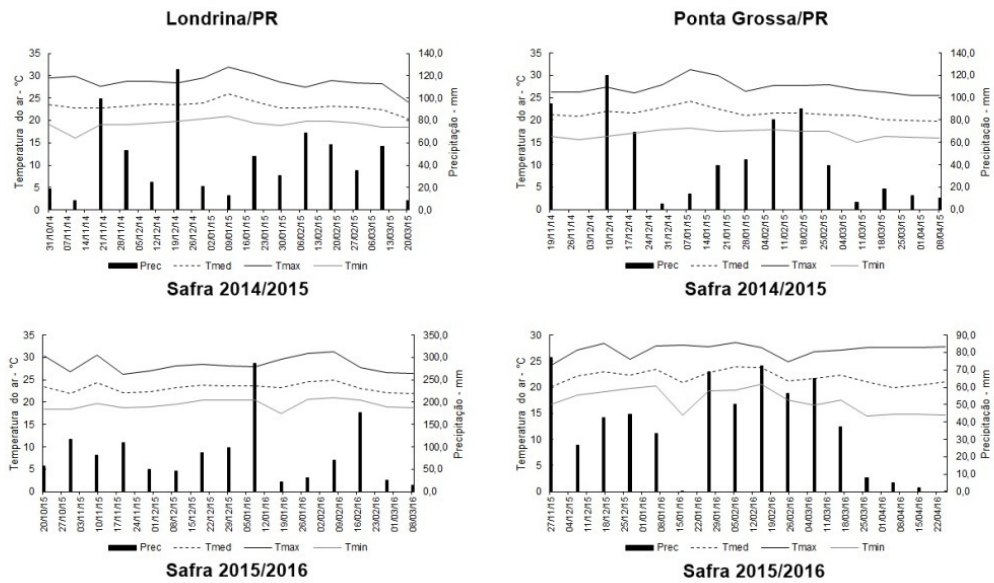
Desta forma, melhoristas de soja têm buscado desenvolver cultivares desprovidas de lipoxigenases, ou com baixos teores, visando reduzir os custos do processamento, que é trabalhoso e oneroso, com a finalidade de melhorar a aceitação dos produtos de soja pelo consumidor (DOMAGALSKI et al., 1992; SEDIYAMA et al., 1998). Sendo assim, torna-se interessante a exploração da variação intracultivar em cultivares convencionais desprovidas de lipoxigenases, pois a estratégia pode disponibilizar genótipos mais produtivos em curto espaço de tempo, aproveitando o *pool* de genes altamente adaptado dessas cultivares.

Desta forma, o objetivo do trabalho foi explorar a variação genética intracultivar para rendimento de grãos e outras características agrônômicas, nas cultivares convencionais de soja UEL 175 e BRS 257, desprovidas de lipoxigenases, através da seleção em ultrabaixa densidade pelo modelo HSD.

#### 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Como material de seleção foram utilizadas sementes das cultivares BRS 257 e UEL 175. A cultivar BRS 257 foi lançada em 2005 pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), é convencional do grupo de maturação (GM) = 6.7 e tipo de crescimento determinado. Apresenta como características relevantes a resistência aos nematoides de galhas *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica* e a ausência das três enzimas lipoxigenases (isoenzimas L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub> e L<sub>3</sub>), permitindo a obtenção de produtos para a alimentação humana com melhor qualidade e sabor. A cultivar UEL 175 foi disponibilizada pela Universidade Estadual de Londrina como fonte de germoplasma, é convencional do GM = 6.7, de crescimento determinado, apresenta teor de proteína de 38,54% e tem como principal característica a ausência das três enzimas lipoxigenases e diminuição dos teores do inibidor de tripsina Kunitz (CARPENTIERI-PIPOLO, 2015).

Nas safras 2014/15 e 2015/16 os experimentos foram conduzidos em dois ambientes contrastantes: Londrina/PR (23° 20' LS e 51° 18' LW) e Ponta Grossa/PR (25° 17' LS, 50° 09' LW), cujos dados de temperaturas, precipitações pluviiais e características químicas do solo são apresentados na Figura 4.1 e Tabela 4.1.



**Figura 4.1** - Temperaturas máxima, mínima, média e precipitação pluviométrica semanais, durante o período de condução dos experimentos de seleção nos agrícolas de 2014/2015 e 2015/2016 em Londrina/PR e em Ponta Grossa/PR.

**Tabela 4.1** – Altitude e características químicas do solo, na camada de 0 a 20 cm, nas áreas experimentais de Londrina/PR e Ponta Grossa/PR.

Locais	Altitude <i>m</i>	pH	Al	H+Al	----- <i>cmolc/dm<sup>3</sup></i> -----					CTC	V% %	P <i>mg.dm<sup>-3</sup></i>
					Ca	Mg	K	SB				
Londrina/PR	585	5,0	0,0	4,1	4,1	1,4	0,8	6,5	10,2	59,3	16,2	
Ponta Grossa/PR	969	5,1	0,0	3,6	3,2	1,3	0,4	5,6	9,8	56,7	18,5	

#### 4.2.1 Honeycomb Selection Designs (HSD) sem Repetição (Safrá 2014/15)

Na safra 2014/15, 400 plantas de cada cultivar, BRS 257 e UEL 175, foram cultivadas em condições de ultrabaixa densidade (1,0 planta  $m^{-2}$ ) (Apêndice D), utilizando o modelo de seleção *Honeycomb Selection Designs* (HSD) sem repetição (FASOULAS; FASOULA, 1995). Desta forma, foram conduzidos dois blocos, sendo um para cada genótipo, nos dois locais. Em Londrina, o experimento foi instalado em 31/10/2014 e a colheita realizada entre 05 e 20/03/2015; em Ponta Grossa, a semeadura foi realizada em 19/11/2014, e a colheita entre 24/03 e 08/04/2015. Foram semeadas quatro sementes por cova e, 15 dias após a semeadura, foi realizado o desbaste de forma a deixar apenas uma planta por cova. Durante a condução dos experimentos, foram eliminadas as plantas que poderiam ser misturas varietais através da observação da cor da pubescência e cor da flor e, após a colheita, cor do

hilo. Os tratos fitossanitários foram efetuados conforme recomendação para a cultura da soja (EMBRAPA, 2013)

Após a colheita, as plantas foram trilhadas individualmente, com o objetivo de evitar-se a mistura de sementes. Foram coletados dados de rendimento de planta individual ( $\text{g planta}^{-1}$ ), porcentagem de rendimento com relação à média de rendimento de seis plantas vizinhas, e o Índice de Rendimento de Planta Individual,  $PYI = (x/\bar{x}_r)^2$ , para cada planta, onde o  $x$  corresponde à produtividade de cada planta individual, e o  $\bar{x}_r$  corresponde à média de produtividade de seis plantas vizinhas. Os valores de  $PYI$  (sem unidade) estimados podem atingir valores superiores ou inferiores a 1,0, sendo que, quanto maior o valor, maior a superioridade produtiva da planta em questão. Esses valores expressam a magnitude com que as plantas selecionadas suplantaram a média de produtividade das plantas vizinhas (FASOULA, 2013).

As 30 melhores plantas de cada local foram caracterizadas quanto a resistência às doenças cancro da haste (*Diaporthe aspalathi*), mancha olho de rã (*Cercospora sojina*), podridão radicular de Phytophthora (*Phytophthora sojae*), quanto ao nematoide de galhas *Meloidogyne javanica* e quanto aos teores de óleo e proteína, visando a manutenção das características da cultivar original.

De acordo com os valores de  $PYI$ , rendimento de planta individual e considerando também a manutenção das características da cultivar original, foram selecionadas 20 plantas de cada cultivar, dez de cada local, para serem avaliadas na safra seguinte. As plantas foram identificadas com o número da cultivar da qual é originária (BRS 257 ou UEL 175), seguido pelo número de ordem da planta no HSD (1 a 400).

#### 4.2.2 Honeycomb Selection Designs (HSD) com Repetição – R-21 (Safra 2015/2016)

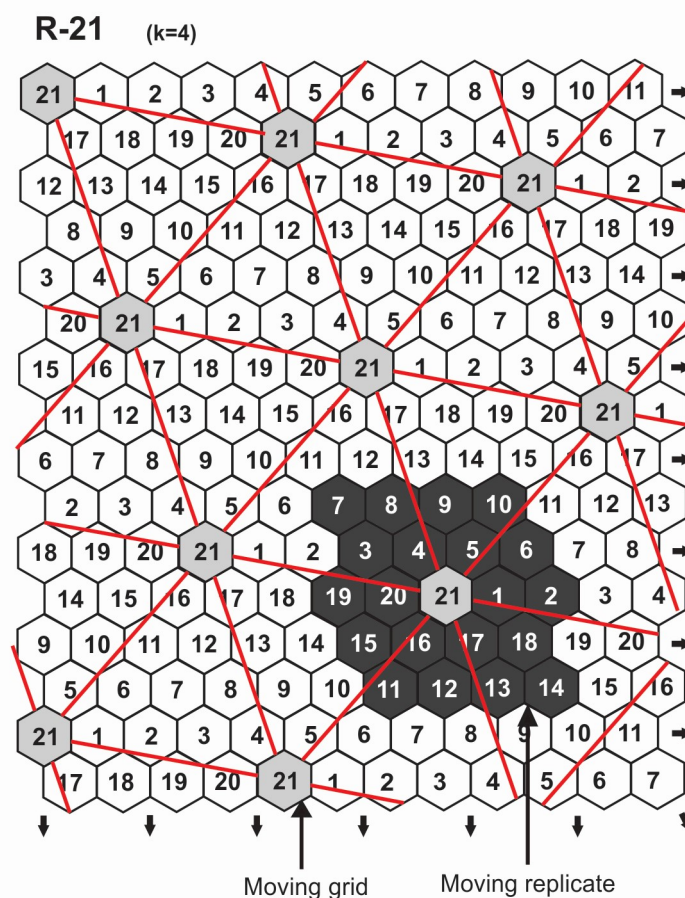
Na safra 2015/2016, as 20 plantas selecionadas no ano anterior, mais a cultivar original (21 entradas), com 20 repetições, totalizando 420 plantas por local, por cultivar, foram avaliadas em ultrabaixa densidade ( $1,0 \text{ planta m}^{-2}$ ), utilizando o modelo HSD R-21 (FASOULAS; FASOULA, 1995). As plantas foram identificadas com a numeração do ano anterior (257-... ou 175-...), acrescido do número de ordem da safra 2015/16 (1 a 21), onde as linhagens selecionadas em Londrina receberam numeração adicional de 1 a 10, as linhagens selecionadas em Ponta Grossa receberam a numeração adicional de 11 a 20 e a cultivar original o número 21. Diferentemente do primeiro ano de seleção, onde as cultivares

foram avaliadas sem repetição, neste ano foi possível realizar a estimativa do Índice de Estabilidade ou Coeficiente de Homeostase ( $SI$ ) de cada família, pois as 20 plantas irmãs (provenientes da mesma planta mãe selecionada na safra anterior) estavam distribuídas ao longo do bloco formando um padrão triangular (Figura 4.2) permitindo, assim, o cálculo dos valores de  $pPE$  que combinam o rendimento de planta individual com a estabilidade, ocasionando em uma seleção mais precisa e eficiente (FASOULA, 2013).

Em Londrina/PR, o experimento foi instalado em 20/10/2015 e a colheita realizada em 05/03/2016, e em Ponta Grossa/PR o experimento foi instalado em 27/11/2015 e colhido em 20/04/2016. Os cuidados relacionados ao desbaste, tratamento fitossanitário, identificação de misturas, assim como, a caracterização para manutenção das características do material original, foram os mesmos da safra 2014/15.

Foram coletados dados de rendimento de planta individual ( $g\ planta^{-1}$ ), Índice de Rendimento de Planta Individual,  $PYI = (x/\bar{x}_r)^2$ , considerando a média de produtividade de 24 plantas vizinhas, e Índice de Estabilidade ou Coeficiente de Homeostase,  $SI = (\bar{x}_g/s)^2$ , sendo  $\bar{x}_g$  a produtividade média de cada família (plantas originadas da mesma mãe) e  $s$  o desvio padrão de cada família (Figura 4.2). Posteriormente, foi obtido o produto destes dois componentes resultando na Equação de Prognóstico de Planta,  $pPE = (x/\bar{x}_r)^2 (\bar{x}_g/s)^2$ , que mede o potencial produtivo de plantas individuais e assegura a eficiência da seleção das melhores plantas (FASOULA, 2013). Os valores de  $PYI$ ,  $SI$  e  $pPE$  foram calculados com o auxílio do programa EXCEL 2010.

Não houve seleção visual e as plantas selecionadas dentro das cultivares BRS 257 e UEL 175 foram escolhidas com base nos maiores valores de  $pPE$ , além de outros fatores como ausência de lipoxigenases e teores de proteína acima de 40%, independentemente do local de seleção. Visando atingir o volume de sementes necessário para compor a rede de experimentação sob competição no ano seguinte, foram agrupadas as quatro melhores plantas dentro de cada família, totalizando 500 gramas de sementes para multiplicação no inverno.



Fonte: FASOULAS; FASOULA, 1995 (modificado).

**Figura 4.2** – Modelo de seleção em ultrabaixa densidade *Honeycomb Selection Designs* R-21 com 21 entradas.

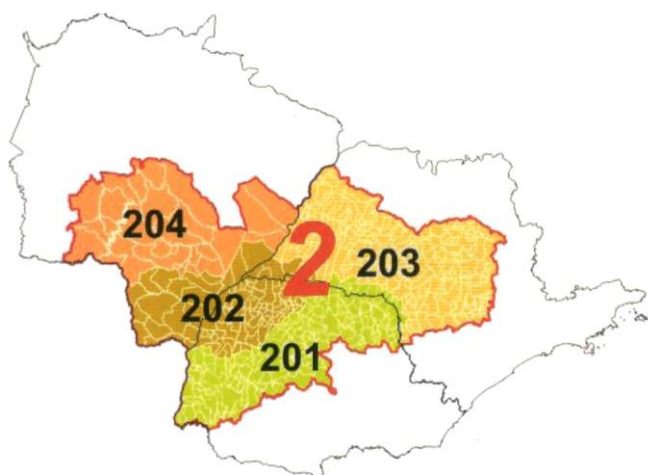
\*Cada planta é alocada no centro de uma “repetição móvel” (*moving replicate*), mostrado na figura em cinza circundando plantas da família nº 21 (plantas oriundas da mesma mãe). O índice de rendimento de planta individual,  $PYI = (x/\bar{x}_r)^2$ , mede o rendimento da planta sem os efeitos causados pela heterogeneidade do solo (sendo  $x$  o rendimento de grãos de cada planta individual e  $\bar{x}_r$  o rendimento médio das 20 plantas vizinhas dentro da “repetição móvel”). As repetições de cada linhagem estão presentes nos cantos de uma “grade móvel” (*moving grid*) espalhada através de todo o experimento e amostrando, de forma efetiva, a heterogeneidade do solo. A “grade móvel” permite a estimativa da estabilidade de cada linhagem através da equação do índice de estabilidade ou coeficiente de homeostase,  $SI = (\bar{x}_g/s)^2$ , onde  $\bar{x}_g$  e  $s$  são o rendimento médio e o desvio padrão de cada família, respectivamente.

#### 4.2.3 Avaliação das Linhagens sob Competição Intraespecífica

As avaliações sob competição, com densidade de 320.000 plantas  $ha^{-1}$ , foram realizadas conforme as Macrorregiões sojícolas (MRS) proposto por Kaster e Farias (2012) (Figura 4.3). Três melhores linhagens selecionadas dentro da cultivar BRS 257 e três da UEL 175 foram avaliadas sob competição na safra 2016/17 em seis locais situados na MRS

2 (Campo Mourão-PR; Palotina-PR; Londrina-PR; Naviraí-MS; Santa Cruz do Rio Pardo-SP e Maracaju-MS).

A semeadura da rede de experimentos foi realizada em outubro e novembro e a colheita em março e abril. As características avaliadas foram: rendimento de grãos (em kg ha<sup>-1</sup>, com umidade corrigida para 13%); massa de 100 sementes (g); altura de planta (cm) - distância, em cm, medida a partir da superfície do solo até a extremidade da haste principal da planta, na época da maturação; dias para o florescimento - número de dias contados a partir da emergência, necessários para que se tenha uma flor aberta em 50% das plantas da parcela; dias para a maturação - número de dias contados, a partir da emergência, necessários para que se tenha 95% de vagens maduras na parcela; acamamento – nota 1,0 para nenhuma planta acamada e 5,0 para todas as plantas acamadas na parcela; reação à doenças e teores de óleo e de proteína (Apêndice C).



Fonte: Adaptado de KASTER; FARIAS (2012).

**Figura 4.3** - Macrorregião Sojícola 2 – Ensaio de V.C.U., Terceira Aproximação. Embrapa Soja, Londrina - PR. 2011.

O modelo experimental utilizado foi o em blocos ao acaso com quatro repetições. Cada parcela foi constituída de quatro linhas de 5,0 m espaçadas de 0,5 m. Os dados obtidos separadamente para cada MRS e para cada genótipo foram submetidos à análise de variância conjunta, sendo que os dados de acamamento foram transformados em arco seno de  $(x/100)^{0,5}$ . Verificou-se a razão entre o maior e o menor quadrado médio residual pelo teste de Hartley para proceder a análise de grupo de experimentos (BANZATTO; KRONKA,

2015). As análises foram realizadas com o auxílio computacional do *software* estatístico R (R CORE TEAM, 2016).

#### 4.3 RESULTADOS

Plantas individuais selecionadas dentro das cultivares de soja BRS 257 e UEL 175 foram avaliadas durante dois anos, sob ultrabaixa densidade, utilizando o modelo de seleção *Honeycomb Selection Designs* (HSD), com o objetivo de se explorar a variação genética intracultivar e obter genótipos mais produtivos. Os melhores genótipos foram, posteriormente, submetidos a experimentos sob competição em densidade de 320.000 plantas ha<sup>-1</sup>. Os resultados obtidos estão descritos a seguir.

##### 4.3.1 Safra 2014/2015 (HSD sem Repetição)

No primeiro ano de seleção em ultra baixa densidade, o rendimento médio das 338 plantas da cultivar BRS 257 colhidas em Londrina foi de 125,1 g planta<sup>-1</sup> superior ao rendimento médio das 373 plantas colhidas em Ponta Grossa que foi de 119,7g planta<sup>-1</sup>. As plantas da cultivar UEL 175 apresentaram rendimentos médios de 121,9 e 86,1g planta<sup>-1</sup> nos mesmos locais, respectivamente, sendo que os coeficientes de variação dos experimentos variaram entre 18,8% e 29,0% para ambos os locais (Tabela 4.2).

Na Tabela 4.2 estão representadas as melhores 30 plantas obtidos de cada cultivar em Londrina e em Ponta Grossa, ranqueadas pelo Índice de Produtividade de Planta (*PYI*) que variou entre 1,15 e 3,30 dentro da cultivar BRS 257, e entre 1,06 e 5,30 dentro da cultivar UEL 175. Destaca-se que os valores de *PYI* acompanharam as porcentagens sobre o rendimento médio de grãos com relação às seis plantas vizinhas presentes dentro do “movingreplicate”. Com relação à média de rendimento das 30 melhores plantas, observou-se que ambos os genótipos apresentaram melhores médias em Londrina do que em Ponta Grossa, sendo que a cultivar BRS 257 apresentou rendimentos médios de 195,2g planta<sup>-1</sup> e 161,6g planta<sup>-1</sup> e a UEL 175 de 193,6g planta<sup>-1</sup> e 125,2g planta<sup>-1</sup> em Londrina e em Ponta Grossa, respectivamente.

De acordo com os valores de *PYI* e rendimento de planta individual, assim como teores de óleo e proteína e resistência a doenças e a nematóides (dados não apresentados), foram selecionadas 20 plantas, sendo dez de cada local (pressão de seleção de

2,6 a 4,0%), para serem novamente submetidas à seleção em ultrabaixa densidade no ano subsequente.

#### 4.3.2 Safra 2015/16 (HSD R-21)

Para a cultivar BRS 257, observou-se que o rendimento médio de grãos das 30 melhores plantas avaliadas em P. Grossa foi de 194,0 g planta<sup>-1</sup>, muito superior à média de rendimento do experimento de Londrina que foi de 87,0 g planta<sup>-1</sup>. Na Tabela 4.3 é apresentado um resumo com o resultado das 30 melhores plantas selecionadas dentro da cultivar BRS 257, ranqueadas pelo valor de *pPE*. Pode ser observado que a cultivar original BRS 257 aparece uma única vez em quinto lugar em Londrina, mas não aparece em P. Grossa. Das 21 famílias avaliadas, 11 apareceram pelo uma vez entre as 30 melhores plantas de Londrina e 14 em P. Grossa; 8 famílias aparecem pelo uma vez nos dois locais. Foram selecionadas cinco famílias de acordo com os valores de *pPE*: 257-26-18, 257-355-19, 257-32-9, 257-359-14 e 257-63-7. Entre as plantas com maior *pPE*, também foi dado destaque aos maiores valores de *SI*, que apresentou maiores valores em Londrina do que em P. Grossa. O *SI* representa o Coeficiente de Homeostase ou o Índice de Estabilidade, ou seja, reflete a variabilidade do rendimento de cada família disposta no “moving grid”; sendo assim, quanto maior o valor de *SI*, maior a estabilidade da linhagem.

Na Tabela 4.4 estão descritos os resultados obtidos no segundo ano de seleção dentro da cultivar UEL 175. O rendimento médio de grãos das 30 melhores plantas avaliadas em P. Grossa foi de 189,5 g planta<sup>-1</sup>, superior à média de rendimento do experimento de Londrina que foi de 116,8 g planta<sup>-1</sup>. Das 21 famílias avaliadas, 13 apareceram pelo menos uma vez entre as 30 melhores plantas em Londrina e sete em P. Grossa; sete famílias aparecem pelo menos uma vez nos dois locais. Foram selecionadas cinco famílias de acordo com os valores de *pPE*: 175-245-11, 175-95-7, 175-339-15, 175-122-12 e 175-101-13. Também foi dado destaque para os valores de *SI* entre as plantas com maior *pPE*. A cultivar original UEL 175 que aparece na 20ª posição somente em P. Grossa.

Sementes das cinco linhagens selecionadas dentro de cada uma das duas cultivares (Tabela 4.3 e 4.4) foram multiplicadas na entressafra no estado do Tocantins. Devido às duas cultivares serem de tipo de crescimento determinado, apresentaram porte baixo e baixo rendimento de grãos naquela latitude. Portanto, só foram avaliadas sob

competição as linhagens que produziram sementes suficientes para participação na rede de experimentos.

#### 4.3.3 Safra 2016/17 (Ensaio em Rede sob Competição Intraespecífica)

Na safra 2016/17, três linhagens selecionadas dentro da cultivar BRS 257 (257-63-7-1, 257-32-9-2 e 257-355-19-4) e três selecionadas dentro da cultivar UEL 175 (175-122-12-3, 175-101-13-4 e 175-339-15-5) foram avaliadas sob competição (320.000 plantas ha<sup>-1</sup>) em rede de experimentos com delineamento experimental em blocos ao acaso, em seis ambientes localizados na Macrorregião Sojícola 2 (MRS 2). Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 4.5.

As linhagens selecionadas dentro da cultivar BRS 257 não apresentaram diferença estatística significativa para rendimento de grãos quando comparadas com a cultivar original. Contudo, foram observadas diferenças significativas para as características dias para o florescimento e massa de 100 grãos. As linhagens floresceram um dia depois da cultivar original e a linhagem 257-355-19-4 apresentou massa de 100 grãos de 18,1 g contra 16,9g da cultivar original (Tabela 4.5).

Com relação às linhagens selecionadas dentro da cultivar UEL 175, houve variação intracultivar para todas as características avaliadas com exceção do acamamento, quando se observa o desempenho das linhagens comparadas com a cultivar original. O destaque foi a linhagem 175-122-12-3 que apresentou rendimento de grãos superior à cultivar original em 5,6%, mas não diferiu estatisticamente da mesma. Houve diferença estatística significativa para dias para o florescimento e massa de 100 grãos, sendo que a linhagem apresentou florescimento dois dias mais tardio e massa de 100 sementes 1,6 g superior à cultivar original.

Na Tabela 4.6 estão descritos os valores de óleo e proteína das melhores linhagens nas safras de 2014/15, 2015/16 e 2016/17. Observa-se que, de maneira geral, não houve diferença significativa para estes teores com relação à cultivar padrão.

#### 4.4 DISCUSSÃO

A seleção de plantas em ultrabaixa densidade através do modelo de seleção HSD foi promissora na identificação de variação genética intracultivar para rendimento de

grãos e outras características agronômicas de interesse, dentro de cultivares de soja consideradas homogêneas.

Na Tabela 4.5 estão representados os dados obtidos da avaliação sob competição ( $320.000$  plantas  $ha^{-1}$ ), em seis diferentes ambientes, das melhores linhagens selecionadas nas safras 2014/15 e 2015/16 pelo modelo HSD. O destaque foi a linhagem 175-122-12-3 que apresentou rendimento de grãos numericamente superior ao da cultivar original em 5,6%, embora esta diferença não tenha sido significativa. Ao fazer a análise retrospectiva desta linhagem, na Tabela 4.2, observa-se que foi a 9ª melhor planta selecionada em P. Grossa, ranqueada pelo *PYI*, dentre as 246 plantas colhidas. Na safra 2015/16 (Tabela 4.4), apresentou um bom desempenho em ambos os locais, aparecendo quatro vezes em Londrina e quatro vezes em P. Grossa entre as melhores 30 plantas de cada local, mostrando adaptação aos dois locais. Nesta safra a linhagem foi selecionada por apresentar alto valor de *SI*, mas não foi destaque quanto aos valores de *pPE*. Cabe observar que a cultivar UEL 175 foi disponibilizada como fonte de germoplasma em 2013 pela Universidade Estadual de Londrina, não passando por avaliação de rendimento em ampla rede de experimentos e nem sendo aplicada metodologia para produção de semente genética e básica, que busca uma maior uniformização do genótipo. Isso pode explicar a maior facilidade de acessar a variabilidade para rendimento de grãos e para as demais características agronômicas avaliadas.

Entre as linhagens obtidas dentro da cultivar BRS 257, não houve variação intracultivar significativa para rendimento de grãos entre as linhagens testadas, mas houve variação para as características dias para o florescimento e massa de 100 sementes. Ao fazer a análise retrospectiva, observa-se que as linhagens 257-355-19-4 e 257-32-9-2, apesar de apresentarem os maiores valores de *pPE* em Londrina, e serem avaliadas sob competição na MRS 2, não manifestaram o esperado desempenho com relação a rendimento de grãos (Tabela 4.3 e 4.5). Por outro lado essas linhagens não foram destaque em P. Grossa, apresentando baixos valores de *pPE*.

Observa-se que algumas linhagens que apresentaram bons valores de *pPE* na safra 2015/16, tais como 257-26-14 e 257-324-20, não foram selecionadas devido aos teores de proteína terem sido inferiores aos da cultivar padrão (Apêndice B). A cultivar BRS 257 apresenta como principais características a ausência de três enzimas lipoxigenases, além de apresentar um teor médio de proteína de 40,6% (EMBRAPA SOJA, 2016); sendo assim,

além dos valores de *pPE*, foram considerados outros fatores, como a ausência das lipoxigenases e teores de proteína acima de 40% na seleção das melhores linhagens.

Sabe-se da existência de uma correlação alta e negativa entre os teores de óleo e proteína, assim como entre o teor de proteína e o rendimento de grãos em soja (MALIK et al., 2007; RAMTEKE et al., 2010; SHI et al., 2010; STOBAUGH et al., 2017; WU et al., 2017). Desta forma, os programas de melhoramento têm tido dificuldade em obter genótipos produtivos e com alta proteína utilizando os métodos de seleção convencionais. Contudo, Fasoula e Boerma (2005b) utilizando o modelo HSD na seleção de plantas de soja com base nos teores de óleo e proteína, utilizando seleção divergente, identificaram duas linhagens obtidas da cultivar “Hakell” que apresentaram maiores teores de proteína do que a cultivar padrão, maiores rendimentos de grãos, além de uma correlação positiva entre essas duas características.

Na Figura 4.1 são observados os valores de precipitação e de temperatura obtidos durante o período em que as plantas permaneceram no campo nas safras 2014/15 e 2015/16, ou seja, durante os dois anos de seleção em ultrabaixa densidade. Desta forma, foi observado que Londrina apresentou uma temperatura média de 23,4°C, em ambas as safras, e uma precipitação pluvial total de 670,6 mm e 1274,5 mm nas safras 2014/15 e 2015/16, respectivamente. Já em P. Grossa, foram observadas temperaturas médias de 21,6 °C e 22,6 °C, e precipitações pluviárias totais de 642,8 mm e 590,9 mm em 2014/15 e 2015/16, respectivamente, evidenciando as condições contrastantes em ambos os ambientes. A fertilidade do solo também é um fator com grande impacto sob o desempenho das plantas, todavia, no presente trabalho não foram observadas diferenças nas características químicas entre o solo de Londrina/PR e Ponta Grossa/PR (Tabela 4.1).

Cabe comparar alguns aspectos relacionados com os rendimentos de planta individual obtidos nesse trabalho com os obtidos por Fasoula e Boerma 2007, cujas médias das 30 melhores plantas selecionadas dentro das cultivares de soja “Haskell”, “Cook” e “Benning” foram de 212, 178 e 176 g planta<sup>-1</sup> respectivamente. Na safra 2014/15 as produtividades obtidas em Londrina foram muito boas para as duas cultivares. Em P. Grossa a cultivar UEL 175 apresentou rendimento um pouco abaixo do esperado. Pôde-se observar que essa cultivar apresenta menor qualidade de semente, refletindo no menor número de plantas colhidas e nesta safra as plantas pareciam menos vigorosas. Na safra 2015/16, ao contrário da safra anterior, as melhores produtividades foram obtidas em P. Grossa. Como pôde ser observado pelos dados de precipitação, nesta safra choveu o dobro da anterior. O excesso de

umidade foi prejudicial, deprimindo o rendimento. As plantas que tem tipo de crescimento determinado, ficaram com altura de plantas comprometida na ausência de competição, principalmente a BRS 257 que apresenta menor altura de planta (Tabela 4.5), refletindo em menor rendimento de grãos.

No presente estudo foi verificado que o ganho de rendimento para a linhagem 175-122-12-3 após dois anos de seleção pelo modelo HSD, com relação à cultivar original, foi de 5,6%, enquanto que, no Brasil, observam-se ganhos de seleção anuais para a cultura da soja variando entre 0,38% e 3,49% (TOLEDO et al., 1990; ALLIPRANDINI et al., 1993; LANGE; FEDERIZZI, 2009; PAGLIOSA, 2016; MEZZALIRA, 2017). De acordo com Rubin e Santos (1996), acredita-se que os ganhos em rendimento de grãos vêm diminuindo com o decorrer do tempo em função do alto potencial produtivo já alcançado e da constante utilização do mesmo germoplasma básico nas hibridações (RUBIN; SANTOS, 1996).

Contudo, uma ampla gama de estudos utilizando o modelo HSD, encontraram ganhos de seleção superiores à média não somente em soja, como a observada no presente estudo, mas também em outras culturas. Em trigo, Tokatlidis et al. (2004), utilizando a metodologia HSD para estudar a variação da produtividade de grãos dentro da cultivar de trigo “Nestos”, observaram que cinco linhagens, avaliadas em ausência de competição, foram superiores em rendimento à cultivar original, com ganhos variando entre 26 e 38%; em parcelas sob competição, os autores verificaram que a melhor linhagem teve rendimento superior em 21% à cultivar original. Tokatlidis et al. (2010), avaliando duas variedades crioulas de feijão quanto ao estresse de temperatura, verificaram um aumento de 38% na produtividade após dois anos de seleção pelo modelo HSD. Neste contexto, Missaoui, Fasoula e Bouton (2005), avaliando a produtividade de genótipos de *Panicum virgatum*, observam ganho da ordem de 19 a 27%.

Em soja, Fasoula et al. (2007a,c), avaliando 12 linhagens de soja, de um total de 17 pertencentes à cultivar “Benning”, observaram que as linhagens apresentaram produtividade média superior ao parental feminino entre 6 e 16%; os autores avaliaram também 12 linhagens, de um total de 16 da cultivar “Haskell”, e observaram que as linhagens superaram o parental em 8 a 22%. Por conseguinte, cinco linhagens da cultivar “Benning” e seis da cultivar “Haskell” foram registradas. Sete linhagens selecionadas da cultivar “Cook” que diferiram do parental quanto às características agrônômicas, também foram registradas (FASOULA et al., 2007b).

De acordo com Rasmusson e Philips (1997), embora seja observada uma homogeneidade nas cultivares elite, existe uma variação genética latente entre plantas individuais de uma cultivar, além de que mecanismos que geram uma nova variação (variação “de novo”) tais como recombinação intragênica, transposons, *crossing over*, metilação do DNA, amplificação gênica e mutação. Estes mecanismos que criam novas variações podem acumular mutações indesejáveis que contribuem, gradualmente, para a degeneração de uma cultivar (FASOULA, 1990, 2012; TOKATLIDIS et al., 2011).

Uma ampla gama de dados tem sido publicados evidenciando a presença de variação intracultivar em diversas culturas. Em trigo, a seleção a 1,2 plantas m<sup>-2</sup> dentro da cultivar Siete Cerros, produziu linhagens 8% mais produtivas que Siete Cerros (FASOULA, 1990). Em algodão a seleção intracultivar a 0,7 plantas m<sup>-2</sup> dentro da cultivar Sindos 80, levou ao lançamento da cultivar Macedônia, que apresentou rendimento 10% superior a cultivar Sindos 80 em 16 ambientes (FASOULA; FASOULA, 2000).

Em soja, Espinosa et al. (2015) estudando a geração espontânea de variações alélicas “de novo” em três linhagens irmãs e seus cruzamentos, causadas pelo estresse abiótico induzido através de envelhecimento acelerado, verificaram que uma planta F<sub>2</sub> mostrou uma mudança no locus *Aconitase-4* (*Aco4*) com relação ao genótipo heterozigótico esperado *Aco4-ac* a *Aco4-ab*. Em linhagens, vários casos de mudança de alelos foram detectados no locus *Aco4*. Os autores também observaram alterações simples e duplas que eram estáveis e hereditárias. Yates et al. (2012), utilizando 144 marcadores SSR para determinar se as plantas individuais selecionadas dentro das cultivares de soja “Benning”, “Haskell” e “Cook” tinham um único *fingerprint* genético, concluíram que as linhagens selecionadas são únicas fenotipicamente e possuem único *fingerprint* genético; conseqüentemente, a seleção de plantas individuais em baixa densidade foi efetiva em identificar a variação herdável, em nível de planta individual, dentro de uma cultivar. Os resultados obtidos pelos autores são importantes porque, além da evidência fenotípica, também proporciona a evidência molecular de que o *pool* de genes não é estanque, mas contém variação genética que pode ser explorada. As linhagens selecionadas foram registradas como germoplasma (Fasoula et al., 2007a, 2007b, 2007c).

Portanto, é desejável explorar qualquer variabilidade latente ou criada “de novo” e remover qualquer variação inadequada dentro das cultivares de soja já lançadas, objetivando não só o aumento de rendimento, mas também, a melhoria de características

agronômicas e de qualidade, evitando assim a degeneração da cultivar, e prolongando a sua vida útil no mercado.

#### 4.5 CONCLUSÕES

A seleção em ultrabaixa densidade utilizando o modelo de seleção *Honeycomb Selection Designs* durante dois anos, foi eficiente na identificação de variação genética intracultivar significativa em cultivares de soja, mostrando-se como um método alternativo que pode ser adotado pelos programas de melhoramento.

A linhagem 175-122-12-3, após dois anos de seleção pelo modelo HSD, apresentou um rendimento médio 5,6% superior à cultivar padrão, quando avaliada sob competição (320.000 plantas ha<sup>-1</sup>), em seis diferentes ambientes localizados na MRS 2.

Houve variação genética intracultivar significativa entre as linhagens selecionadas dentro das cultivares BRS 257 e UEL 175 para todas as características avaliadas, exceto para rendimento de grãos e acamamento, quando comparadas com a cultivar original.

A seleção das melhores plantas implica necessariamente na multiplicação de sementes na entressafra para que o genótipo possa participar em ampla rede de experimentos sob competição, avaliando um número maior de linhagens.

As vantagens do método estão relacionadas com a possibilidade de aproveitamento do *pool* de genes adaptados das cultivares comerciais, promovendo a melhoria das características agronômicas de interesse, em curto espaço de tempo.

**Tabela 4.2** – Rendimento de grãos de planta individual (g), Porcentagem sobre o rendimento médio de grãos de seis plantas vizinhas (% Viz) e Índice de Rendimento de Planta Individual (PYI) das 30 melhores plantas selecionadas dentro das cultivares BRS 257 e UEL 175, em ultrabaixa densidade através do modelo *Honeycomb Selection Designs* sem repetição, em Londrina (LDA) e em Ponta Grossa (PGA), safra 2014/2015.

Nº	BRS 257								UEL 175							
	LDA				PGA				LDA				PGA			
	Linhagem	Rend	% Viz	PYI	Linhagem	Rend	% Viz	PYI	Linhagem	Rend	% Viz	PYI	Linhagem	Rend	% Viz	PYI
1	257-93*	217	181,6	3,30	257-359*	177	171,6	2,95	175-228*	221	187,4	3,51	175-392	122	230,2	5,30
2	257-140*	166,5	172,0	2,96	257-250*	179	159,5	2,54	175-219	178	175,2	3,07	175-225*	129	224,0	5,02
3	257-255	208	166,1	2,76	257-223	174	159,1	2,53	175-4*	242	171,5	2,94	175-399	117	219,7	4,83
4	257-226	189	158,5	2,51	257-75	166	158,1	2,50	175-6	181	162,9	2,65	175-113	122	217,9	4,75
5	257-98*	211	155,8	2,43	257-2	163	156,1	2,44	175-192*	215	149,1	2,22	175-54*	128	201,9	4,08
6	257-196*	208	151,4	2,29	257-56	155	155,7	2,42	175-136*	192	148,0	2,19	175-229	122	189,9	3,61
7	257-383*	218	150,1	2,25	257-275	158	150,7	2,27	175-347	178	142,6	2,03	175-104*	138	189,8	3,60
8	257-319	194	147,4	2,17	257-26*	164	149,6	2,24	175-29*	215	142,2	2,02	175-72	123	187,3	3,51
9	257-125	180	146,7	2,15	257-109	153	149,8	2,24	175-95*	206	139,8	1,95	175-122*	142	182,9	3,35
10	257-352	190	141,6	2,01	257-90	157	145,9	2,13	175-258*	206	138,8	1,93	175-173	130	180,1	3,24
11	257-66*	221	141,5	2,00	257-388	160	144,4	2,09	175-127*	203	137,6	1,89	175-245*	151	177,1	3,14
12	257-130	201	140,6	1,98	257-217*	171	142,8	2,04	175-134	199	135,4	1,83	175-296	127	174,8	3,05
13	257-191*	224	139,6	1,95	257-331	163	140,7	1,98	175-63	193	134,3	1,80	175-301	126	160,1	2,56
14	257-132	175	139,1	1,93	257-323*	177	140,3	1,97	175-101	199	133,5	1,78	175-339*	138	157,9	2,49
15	257-166	178	138,5	1,92	257-203*	177	136,8	1,87	175-35*	207	132,9	1,77	175-237*	130	156,9	2,46
16	257-95	192	137,3	1,89	257-246*	172	135,8	1,85	175-223	185	128,7	1,66	175-158	114	156,2	2,44
17	257-381	176	134,1	1,80	257-97*	167	135,3	1,83	175-94	197	128,0	1,64	175-281	115	155,1	2,41
18	257-287	182	132,5	1,76	257-39	157	132,9	1,77	175-195	194	126,2	1,59	175-256	115	155,0	2,40
19	257-127	193	132,5	1,75	257-149	156	131,1	1,72	175-287	178	124,0	1,54	175-93	118	154,8	2,39
20	257-32*	203	131,6	1,73	257-326	162	126,3	1,60	175-190*	201	120,8	1,46	175-310	123	152,8	2,33
21	257-354	189	126,7	1,60	257-355*	161	126,6	1,60	175-93	195	120,4	1,45	175-84	117	152,8	2,33
22	257-31	197	124,3	1,54	257-136	149	125,5	1,58	175-164	190	116,9	1,37	175-345	120	152,5	2,32
23	257-63*	209	122,0	1,49	257-381	152	123,5	1,52	175-3	198	115,9	1,34	175-25	122	150,9	2,28
24	257-3	177	122,1	1,49	257-353	159	122,7	1,51	175-62	174	114,0	1,30	175-40	119	151,0	2,28
25	257-289	176	119,4	1,43	257-195	153	122,8	1,51	175-131	176	113,5	1,29	175-101*	138	148,6	2,21
26	257-155	176	115,5	1,33	257-168	155	122,0	1,49	175-255	174	113,5	1,29	175-354	115	148,3	2,20
27	257-160	194	112,9	1,27	257-184	153	122,0	1,49	175-189	180	109,9	1,21	175-309*	131	145,0	2,10
28	257-34	204	112,2	1,26	257-233	149	121,4	1,47	175-284	174	109,4	1,20	175-274*	130	143,3	2,05
29	257-192	194	107,6	1,16	257-324*	159	115,7	1,34	175-191	181	108,2	1,17	175-340	119	141,7	2,01
30	257-64*	213	107,5	1,15	257-202	150	109,4	1,20	175-162	175	103,2	1,06	175-303	115	120,1	1,44
N		338				373				322				246		
$\bar{X}$ (g)		125,1				119,7				121,9				86,1		
CV%		27,5				18,8				29,0				22,7		

\*Linhagens selecionadas para a próxima safra.  $PYI = (x/\bar{x}_r)^2$  é o Índice de Rendimento de Planta Individual, onde o  $x$  corresponde à produtividade de cada planta individual, e o  $\bar{x}_r$  corresponde à média de produtividade de plantas vizinhas.

**Tabela 4.3** - Rendimento de grãos de planta individual (g), Índice de produtividade de planta (*PYI*), Índice de estabilidade (*SI*) e Equação de Prognóstico de Planta (*pPE*) de plantas selecionadas dentro da cultivar BRS 257, em Londrina (LDA) e Ponta Grossa (PGA), safra 2015/16.

BRS 257										
Nº	LDA					PGA				
	Linhagem	Rend	<i>PYI</i>	<i>SI</i>	<i>pPE</i>	Linhagem	Rend	<i>PYI</i>	<i>SI</i>	<i>pPE</i>
1	<b>257-355-19*</b>	79,0	3,47	28,68	99,60	<b>257-26-18</b>	242,5	8,10	17,99	145,75
2	<b>257-32-9*</b>	105,5	3,07	25,34	77,75	<b>257-191-1</b>	203,5	6,05	17,43	105,51
3	<b>257-32-9*</b>	72,5	2,66	25,34	67,37	<b>257-64-5</b>	209,0	7,30	14,23	103,85
4	<b>257-32-9*</b>	92,0	2,63	25,34	66,76	<b>257-359-14</b>	186,0	4,67	21,62	100,98
5	<b>BRS 257</b>	100,5	4,21	15,15	63,81	<b>257-32-9*</b>	175,0	2,67	36,74	97,94
6	<b>257-324-20</b>	83,0	2,84	22,17	63,01	<b>257-32-9*</b>	160,0	2,62	36,74	96,22
7	<b>257-63-7*</b>	62,5	2,38	26,11	62,25	<b>257-359-14</b>	173,0	4,24	21,62	91,70
8	<b>257-203-12</b>	118,0	5,46	11,36	62,02	<b>257-359-14</b>	186,0	4,24	21,62	91,60
9	<b>257-250-11</b>	122,5	3,28	18,36	60,21	<b>257-359-14</b>	188,5	3,95	21,62	85,49
10	<b>257-63-7*</b>	76,5	2,24	26,11	58,50	<b>257-217-16</b>	185,0	3,91	21,28	83,18
11	<b>257-355-19*</b>	78,0	1,91	28,68	54,67	<b>257-26-18</b>	201,5	4,34	17,99	78,08
12	<b>257-250-11</b>	96,0	2,97	18,36	54,43	<b>257-26-18</b>	217,5	4,23	17,99	76,03
13	<b>257-355-19*</b>	72,5	1,89	28,68	54,18	<b>257-196-8</b>	208,5	5,40	13,96	75,39
14	<b>257-324-20</b>	92,0	2,43	22,17	53,98	<b>257-217-16</b>	166,5	3,46	21,28	73,57
15	<b>257-324-20</b>	95,5	2,42	22,17	53,70	<b>257-26-18</b>	163,0	4,00	17,99	71,89
16	<b>257-66-2</b>	73,5	2,14	24,41	52,13	<b>257-26-18</b>	217,5	3,92	17,99	70,59
17	<b>257-93-4</b>	84,0	3,21	15,95	51,14	<b>257-359-14</b>	212,5	3,24	21,62	70,09
18	<b>257-250-11</b>	95,0	2,74	18,36	50,22	<b>257-359-14</b>	176,5	3,17	21,62	68,49
19	<b>257-66-2</b>	83,5	2,04	24,41	49,73	<b>257-63-7*</b>	185,0	4,11	15,64	64,28
20	<b>257-355-19*</b>	86,5	1,69	28,68	48,59	<b>257-217-16</b>	220,0	2,86	21,28	60,80
21	<b>257-26-18</b>	68,5	2,48	19,02	47,25	<b>257-323-13</b>	243,0	3,93	15,31	60,22
22	<b>257-66-2</b>	80,5	1,93	24,41	47,18	<b>257-217-16</b>	204,5	2,75	21,28	58,46
23	<b>257-63-7*</b>	92,5	1,80	26,11	46,92	<b>257-323-13</b>	166,5	3,79	15,31	58,08
24	<b>257-32-9*</b>	66,0	1,80	25,34	45,59	<b>257-355-19*</b>	171,0	3,63	15,90	57,69
25	<b>257-217-16</b>	98,0	2,35	19,08	44,77	<b>257-196-8</b>	184,0	3,94	13,96	55,06
26	<b>257-66-2</b>	90,0	1,83	24,41	44,74	<b>257-323-13</b>	185,0	3,53	15,31	54,09
27	<b>257-32-9*</b>	93,5	1,76	25,34	44,71	<b>257-140-10</b>	177,5	4,13	10,63	43,91
28	<b>257-98-6</b>	85,5	2,66	16,70	44,41	<b>257-324-20</b>	166,0	4,21	9,87	41,57
29	<b>257-324-20</b>	93,5	1,98	22,17	43,86	<b>257-250-11</b>	289,0	5,99	6,20	37,09
30	<b>257-32-9*</b>	90,5	1,72	25,34	43,49	<b>257-203-12</b>	178,0	6,68	5,53	36,95
N		382					307			
$\bar{X}$ (g)		71,1					154,7			
CV%		26,5					28,7			

\*Linhagens selecionadas para a próxima safra.  $PYI = (x/\bar{x}_r)^2$  é o Índice de produtividade de planta, onde  $x$  corresponde à produtividade de cada planta individual, e  $\bar{x}_r$  corresponde à média de produtividade de plantas vizinhas;  $SI = (\bar{x}_g/s)^2$  é o Índice de estabilidade, onde  $\bar{x}_g$  é a produtividade média de cada família (plantas originadas da mesma mãe) e  $s$  o desvio padrão de cada família; e  $pPE = PYI.SI$  é a Equação de Prognóstico de Planta.

**Tabela 4.4-** Rendimento de grãos de planta individual (g), Índice de produtividade de planta (*PYI*), Índice de estabilidade (*SI*) e Equação de Prognóstico de Planta (*pPE*) de plantas selecionadas dentro da cultivar UEL 175, em Londrina (LDA) e Ponta Grossa (PGA), safra 2015/16.

UEL 175										
Nº	LDA					PGA				
	Linhagem	Rend	<i>PYI</i>	<i>SI</i>	<i>pPE</i>	Linhagem	Rend	<i>PYI</i>	<i>SI</i>	<i>pPE</i>
1	<b>175-245-11</b>	66,5	7,84	26,66	208,99	<b>175-339-15*</b>	167,5	3,71	37,01	137,34
2	<b>175-95-7</b>	102,5	5,60	31,71	177,43	<b>175-35-5</b>	215,0	6,75	19,24	129,88
3	<b>175-309-16</b>	134,5	16,49	9,25	152,56	<b>175-339-15*</b>	153,5	3,44	37,01	127,49
4	<b>175-309-16</b>	178,5	14,76	9,25	136,56	<b>175-35-5</b>	229,0	6,59	19,24	126,86
5	<b>175-29-3</b>	151,5	9,37	13,19	123,52	<b>175-339-15*</b>	199,0	3,27	37,01	121,19
6	<b>175-35-5</b>	87,5	12,15	10,08	122,44	<b>175-101-13*</b>	181,5	5,72	21,13	120,80
7	<b>175-101-13*</b>	139,5	7,30	16,49	120,40	<b>175-122-12*</b>	191,5	5,84	19,15	111,93
8	<b>175-101-13*</b>	140,5	6,23	16,49	102,75	<b>175-95-7</b>	190,0	3,62	29,96	108,58
9	<b>175-95-7</b>	92,5	3,17	31,71	100,67	<b>175-35-5</b>	236,0	5,41	19,24	104,05
10	<b>175-339-15*</b>	113,5	6,71	14,73	98,84	<b>175-339-15*</b>	181,0	2,65	37,01	98,23
11	<b>175-122-12*</b>	131,0	4,66	21,22	98,79	<b>175-190-9</b>	238,0	6,74	14,43	97,34
12	<b>175-258-6</b>	128,0	3,78	25,88	97,77	<b>175-35-5</b>	221,0	4,82	19,24	92,69
13	<b>175-54-20</b>	111,0	4,57	20,44	93,35	<b>175-122-12*</b>	218,0	4,80	19,15	91,85
14	<b>175-237-17</b>	119,0	5,74	16,02	91,87	<b>175-274-18</b>	217,0	6,14	14,88	91,41
15	<b>175-54-20</b>	115,5	4,41	20,44	90,06	<b>175-95-7</b>	167,0	3,02	29,96	90,56
16	<b>175-192-4</b>	126,0	5,27	16,75	88,34	<b>175-101-13*</b>	214,0	4,25	21,13	89,74
17	<b>175-95-7</b>	101,5	2,78	31,71	88,28	<b>175-95-7</b>	149,5	2,97	29,96	89,07
18	<b>175-122-12*</b>	125,5	4,16	21,22	88,23	<b>175-339-15*</b>	157,5	2,35	37,01	87,15
19	<b>175-101-13*</b>	143,5	5,23	16,49	86,26	<b>175-339-15*</b>	147,5	2,27	37,01	84,21
20	<b>175-190-9</b>	113,0	4,57	17,26	78,82	<b>UEL 175</b>	195,5	6,65	12,56	83,52
21	<b>175-95-7</b>	107,0	2,48	31,71	78,64	<b>175-339-15*</b>	151,5	2,23	37,01	82,46
22	<b>175-95-7</b>	114,5	2,48	31,71	78,51	<b>175-101-13*</b>	177,5	3,87	21,13	81,82
23	<b>175-258-6</b>	113,0	3,03	25,88	78,42	<b>175-35-5</b>	214,0	4,16	19,24	80,04
24	<b>175-95-7</b>	92,5	2,46	31,71	78,00	<b>175-339-15*</b>	150,0	2,16	37,01	79,88
25	<b>175-95-7</b>	67,0	2,46	31,71	77,89	<b>175-122-12*</b>	185,0	4,08	19,15	78,14
26	<b>175-122-12*</b>	111,0	3,65	21,22	77,37	<b>175-190-9</b>	211,0	5,39	14,43	77,82
27	<b>175-122-12*</b>	117,5	3,63	21,22	77,02	<b>175-339-15*</b>	143,0	2,09	37,01	77,29
28	<b>175-95-7</b>	106,5	2,42	31,71	76,66	<b>175-35-5</b>	183,0	4,01	19,24	77,14
29	<b>175-274-18</b>	117,0	4,61	16,57	76,46	<b>175-122-12*</b>	170,0	4,00	19,15	76,69
30	<b>175-101-13*</b>	137,5	4,61	16,49	76,03	<b>175-35-5</b>	189,5	3,97	19,24	76,39
N		307					292			
$\bar{X}$ (g)		89,5					149,7			
CV%		25,2					28,7			

\*Linhagens selecionadas para a próxima safra.  $PYI = (x/\bar{x}_r)^2$  é o Índice de produtividade de planta, onde  $x$  corresponde à produtividade de cada planta individual, e  $\bar{x}_r$  corresponde à média de produtividade de plantas vizinhas;  $SI = (\bar{x}_g/s)^2$  é o Índice de estabilidade, onde  $\bar{x}_g$  é a produtividade média de cada família (plantas

originadas da mesma mãe) e  $s$  o desvio padrão de cada família; e  $pPE = PYI.SI$  é a Equação de Prognóstico de Planta.

**Tabela 4.5** – Rendimento médio de grãos e características agrônômicas de três linhagens de soja derivadas da cultivar BRS 257 e três derivadas da UEL 175, selecionadas em ultrabaixa densidade através do método *Honeycomb Selection Designs*, comparados à cultivar original, nas Macrorregiões Sojícolas 2 e 3, na safra 2016/2017.

<b>BRS 257</b>							
Genótipo	Rend	%	AP	DF	DM	AC	M100
257-63-7-1	3836,3a	97,3	48b	37a	115b	1,13a	16,9b
257-32-9-2	3829,3a	97,1	53a	37a	116a	1,07a	16,5b
257-355-19-4	3706,7a	94,0	49ab	37a	116a	1,02a	18,1a
BRS 257	3944,7a	100,0	52ab	36b	116ab	1,04a	16,9b
Média	3829		51	37	116	1,07	17,1
CV (%)	21,5		35,7	18,1	6,9	21,1	10,9
<b>UEL 175</b>							
Genótipo	Rend	%	AP	DF	DM	AC	M100
175-122-12-3	4011,8a	105,6	75ab	48b	120a	1,04a	17,0a
175-101-13-4	3628,9b	95,5	79a	49a	119b	1,11a	14,0c
175-339-15-5	3549,9b	93,4	77a	49a	119b	1,06a	14,4c
UEL 175	3800,8ab	100,0	71b	46c	120a	1,02a	15,4b
Média	3748		76	48	120	1,06	15,2
CV(%)	21,6		28,2	16,1	7,8	19,0	11,6

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Rend: rendimento em  $\text{kg ha}^{-1}$ ; %: porcentagem em relação à cultivar original; AP: altura de planta (cm); DF: dias para o florescimento; DM: dias para maturação; AC: acamamento (%); M100: massa de 100 sementes (g). \*Resultados médios de 6 locais: Campo Mourão-PR; Palotina-PR; Londrina-PR; Naviraí-MS; Santa Cruz do Rio Pardo-SP e Maracaju-MS.

**Tabela 4.6** – Teores médios de óleo e proteína de linhagens de soja derivadas das cultivares BRS 257 e UEL 175, selecionadas em ultrabaixa densidade através do modelo *Honeycomb Selection Designs* durante dois anos (safra 2014/15 e 2015/16) e em um ensaio de competição (safra 2016/17), comparadas às cultivares originais.

Genótipos	Óleo (%)				Proteína (%)			
	2014/15	2015/16	2016/17	Média	2014/15	2015/16	2016/17	Média
<b>BRS 257</b>								
BRS 257	-	20,32ab	20,72a	20,52a	-	41,1ab	39,78a	40,44a
257-63-7-1	21,30a	18,92c	20,33a	20,18a	40,67a	42,48a	39,74a	40,96a
257-32-9-2	21,10a	20,72a	20,99a	20,94a	41,07a	40,26b	40,18a	40,50a
257-355-19-4	22,04a	20,04b	19,95a	20,68a	41,46a	41,73ab	40,50a	41,23a
<b>UEL 175</b>								
UEL 175	-	20,41a	22,08a	21,25a	-	39,10b	36,55a	37,82a
175-122-12-3	19,88b	19,63b	20,20a	19,90a	39,68a	40,50a	37,48a	39,22a
175-101-13-4	23,08a	20,25a	20,42a	21,25a	38,14a	39,06b	37,88a	38,36a
175-339-15-5	20,81b	19,52b	20,76a	20,36a	39,25a	39,62ab	37,83a	38,90a

\*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

## 4.6 REFERÊNCIAS

- ALLIPRANDINI, L. F.; TOLEDO, J. F. F.; FONSECA JUNIOR, N. S.; KIIHL, R. A. S. Ganho genético em soja no Estado do Paraná, via melhoramento no período de 1985/86 a 1989/90. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 489-497, 1993.
- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação Agrícola**. 4.ed. FUNEP: Jaboticabal, 2015. 237p.
- BYTH, D. H.; WEBER, C. R. Effects of genetic heterogeneity within two soybean populations I. Variability within environments and stability across environments, **Crop Science**, v. 8, p. 44-47, 1968.
- CARPENTIERI-PIPOLO, V. UEL 175: a novel lipoxygenase-free soybean cultivar with kunitz trypsin inhibitor absence. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 15, p. 191-192, 2015.
- CHEN, P., Developing high quality identity-preserved soybean for the specialty soyfood market. In: **Production and Marketing of Identity-Preserved Soybean**, Saint Louis: American Soybean Association, 2004, p. 23-31.
- DOMAGALSKI, J. M., KOLLIPARA, K. P., BATES, A. H., BRANDON, D.L., FRIEDMAN, M., HYMOWITZ, T. Nulls for the major soybean Bowman-Birk protease inhibitor in the genus Glycine. **Crop Science**, v. 32, p. 1502- 1505, 1992.
- EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Tecnologias de produção de soja – Região Central do Brasil 2014**. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 268p. (Sistemas de Produção/Embrapa Soja, n. 16).
- EMBRAPA SOJA. **Portifólio Embrapa de cultivares de soja**, 2016. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/>>. Acesso em: 20 out 2018.
- ESPINOSA, K.; BOELTER, J.; LOLLE, S.; HOPKINS, M.; GOGGI, S.; PALMER, R. G.; SANDHU, D. Evaluation of spontaneous generation of allelic variation in soybean in response to sexual hybridization and stress. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 95, p. 405-415, 2015.
- FASOULA, D. A. Correlations between auto-, allo- and nil competition and their implications in plant breeding. **Euphytica**, v. 50, p. 57–62, 1990.
- FASOULA, D. A. Nonstop selection for high and stable crop yield by two prognostic equations to reduce yield losses. **Agriculture**, v. 2, p. 211-227, 2012.

- FASOULA, V. A. Prognostic breeding: A new paradigm for crop improvement. **Plant Breeding Reviews**, v. 37, p. 297-347, 2013.
- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R. Divergent selection at ultra-low plant density for seed protein and oil content within soybean cultivars. **Field Crops Research**, v. 91, p. 217–229, 2005.
- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R. Intra-cultivar variation for seed weight and other agronomic traits within three elite soybean cultivars. **Crop Science**, v. 47, p. 367–373, 2007.
- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R.; YATES, J. L.; WALKER, D. R.; FINNERTY, S. L.; ROWAN, G. B.; WOOD, E. D. Registration of five soybean germplasm lines selected within the cultivar ‘Benning’ differing in seed and agronomic traits. **Journal of Plant Registrations**, v. 1, p. 156-157, 2007a.
- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R.; YATES, J. L.; WALKER, D. R.; FINNERTY, S. L.; ROWAN, G. B.; WOOD, E. D. Registration of seven soybean germplasm lines selected within the cultivar ‘Cook’ differing in seed and agronomic traits. **Journal of Plant Registrations**, v. 1, p. 158-159, 2007b.
- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R.; YATES, J. L.; WALKER, D. R.; FINNERTY, S. L.; ROWAN, G. B.; WOOD, E. D. Registration of six soybean germplasm lines selected within the cultivar ‘Haskell’ differing in seed and agronomic traits. **Journal of Plant Registrations**, v. 1, p. 160-161, 2007c.
- FASOULA, V. A.; FASOULA, D. A. Honeycomb breeding: principles and applications. **Plant Breeding Reviews**, v. 18, p. 177-250, 2000.
- FASOULAS, A.C.; FASOULA, V. A. Honeycomb selection designs. **Plant Breed Rev.**, v. 13, p. 87–139, 1995.
- GREVENIOTIS, V.; FASOULA, V. A. Application of prognostic breeding in maize. **Crop & Pasture Science**, v. 67, p. 605-620, 2016.
- GREVENIOTIS, V.; XANTHOPOULOU, O., PESSIOS, E.; DELIGEORGIDIS, P.; STEFANIS, D.; IPSILANDIS, C.G. honeycomb evaluation of barley germplasm under pre-evaluated environments. **Cereal Research Communications**, v. 37, n. 4, p. 567–574, 2009.
- KASTER, M.; FARIAS, J. R. B. **Regionalização dos testes de Valor de Cultivo e Uso e da indicação de cultivares de soja** – Terceira Aproximação. Documentos/ Embrapa Soja, n.330, Londrina: Embrapa Soja, 2012, 69 p.
- KINNEY, A. J. Engineering soybeans for food and healthy. **AgBioForum**, v. 6, p. 18-22, 2003.

- LANGE, C. E.; FEDERIZZI, L. C. Estimation of soybean genetic progress in the south of Brazil using multienvironmental yield trials. **Scientia Agricola**, v. 66, n. 3, p. 309-316, 2009.
- LAVERRACK, G. K. Management of breeders seed production. **Seed Science Technology**, v. 22, p. 551–563, 1994.
- MALIK, M.F.A.; ASHRAF, M.; QURESHI, A.S.; GHAFOR, A. Assessment of genetic variability, correlation and path analyses for yield and its components in soybean. **Pakistan Journal of Botany**, v. 39, n. 2, p. 405-413, 2007.
- MENEGUCE, B. et al. Interação genótipo x ano para tempo de cozimento e sua correlação com a massa e percentagem de embebição em soja tipo alimento. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 4, p. 463-476, 2005.
- MESSINA, M.; GARDNER C.; BARNES, S. Gaining insight into the health effects of soy but a long way still to go. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 547S-551S, 2002.
- MEZZALIRA, I. **Ganho genético para produtividade de grãos de soja na região central do Brasil**. 2017. 44 f. Dissertação (Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.
- MISSAOUI, A. M.; FASOULA, V. A.; BOUTON, J. H. The effect of low plant density on response to selection for biomass production in switchgrass. **Euphytica**, v. 142, n. 1, p. 1–12, 2005.
- PAGLIOSA, E. S. **Ganho genético em soja na região meridional do Brasil**. 2016. 121 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.
- PARLEVLIT, J E. How to maintain improved cultivars. **Euphytica**, v. 153, p. 353–362, 2007.
- R CORE TEAM (2016). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- RAMTEKE, R.; KUMAR, V.; MURLIDHARAN, P.; AGARWAL, D.K. Study on genetic variability and traits interrelationship among released soybean varieties of India [*Glycine max* (L.) Merrill]. **Electronic Journal of Plant Breeding**, v. 1, n. 6; p. 1483-1487, 2010.
- RASMUSSEN, D. C.; PHILLIPS, R. L. Plant breeding progress and genetic diversity from de novo variation and elevated epistasis. **Crop Science**, v.37, p.303-310, 1997.
- RUBIN, S. A. L.; SANTOS, O. S. Progresso do melhoramento genético de soja no estado do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 2, p. 139-147, 1996.
- SEDIYAMA, C. S.; QUEIROZ, L. R.; MOREIRA, M. A.; REZENDE, S. T. Aldehyde production and physiological quality of soybean seeds lacking lipoxigenase isozymes. In:

**WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE.** Kasetsart University Press, p. 441-446, 1998.

SEDIYAMA, T. **Tecnologias de produção e usos da soja.** Londrina: Mecenaz, 2009. 314 p.

SHI, A; CHEN, P.; ZHANG, B.; HOU, A. Genetic diversity and association analysis of protein and oil content in food-grade soybeans from Asia and the United States. **Plant Breeding**, v. 129, p. 205-256, 2010.

SILVA, J. B.; PRUDÊNCIO, S. H.; FELBERG, I.; DELIZA, R.; CARRÃO-PANIZZI, M. C. Aceitabilidade de bebidas preparadas a partir de diferentes extratos hidrossolúveis de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.12, p.1779-1784, 2007.

SPRAGUE, G. F.; RUSSEL, W. A.; PENNY, L. H. Mutations affecting quantitative traits in selfed progeny of double monoploid maize stocks. **Genetics**, v. 45, p. 855-865, 1960.

STOBAUGH, B.; FLOREZ-PALACIOS, L.; CHEN, P.; ORAZALY, M. Agronomic evaluation of high-protein and high-oil soybean genotypes for specialty markets. **Journal of Crop Improvement**, v. 31, n. 2, p. 247-260, 2017.

TOKATLIDIS I.S.; PAPADOPOULOS, I.I.; BAXEVANOS, D.; KOUTITA, O. Genotype  $\times$  environment effects on single-plant selection at low density for yield and stability in climbing dry bean populations. **Crop Science**, v. 50, p. 775–783, 2010.

TOKATLIDIS, I. S.; TSIKRIKONI, C.; LITHOURGIDIS, A. S.; TSIALTAS, J. T.; TZANTARMAS, C. Intra-cultivar variation in cotton: response to singleplant yield selection at low density. **Journal of Agricultural Science**, v. 149, p. 197–204, 2011.

TOKATLIDIS, I.S.; TSIALTAS, J.T.; XYNIAS, I.N.; TAMOUTSIDIS, E.; IRAKLI, M. Variation within a bread wheat cultivar for grain yield, protein content, carbon isotope discrimination and ash content. **Field Crops Research.**, v. 86, p. 33–42, 2004.

TOLEDO, J. F. F.; ALMEIDA, L. A.; KIIHL, R. A. S.; MENOSSO, M. G. Ganho genético em soja no Estado do Paraná, via melhoramento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 25, p. 89-94, 1990.

WILCOX, J.R. Increasing seed protein in soybean with eight cycles of recurrent selection. **Crop Science**, v. 38, p. 1536-1540, 1998.

WU, T.; YANG, X.; SUN, S.; WANG, C.; WANG, Y.; JIA, H.; MAN, W.; FU, L.; SONG, W.; WU, C.; YAN, H.; JIANG, B.; HOU, W.; REN, G.; HAN, T. Temporal–Spatial Characterization of Seed Proteins and Oil in Widely Grown Soybean Cultivars across a Century of Breeding in China. **Crop Breeding & Genetics**, v. 57, n. 2, p. 748-759, 2017.

YATES, J. L.; BOERMA, R.; FASOULA, V. A. SSR-marker analysis of the intracultivar phenotypic variation discovered within 3 soybean cultivars. **Journal of Heredity**, v.103, n. 4, p. 570–578, 2012.

## 5 ARTIGO C – ACEITABILIDADE DE EXTRATOS DE GRÃOS DE LINHAGENS DE SOJA OBTIDAS POR SELEÇÃO DENTRO DE CULTIVARES COMERCIAIS

### RESUMO

O melhoramento genético de soja voltado para a alimentação humana tem buscado lançar cultivares sem lipoxigenases, uma vez que estas enzimas são responsáveis pelo aparecimento do sabor de “feijão cru” em produtos de soja. Sabe-se que o desenvolvimento de uma cultivar é uma atividade demorada e onerosa, por isso, para aumentar seu ciclo de vida no mercado é possível aproveitar a variação intracultivar, através da seleção de planta única sob ultrabaixa densidade pelo modelo *Honeycomb Selection Designs* (HSD). O objetivo do trabalho foi avaliar a aceitabilidade de extratos de soja preparados com grãos de linhagens selecionadas a partir de uma cultivar comum (BRS 284) e de duas cultivares desprovidas de lipoxigenases (BRS 257 e UEL 175). Para isso, foram selecionadas plantas individuais utilizando a metodologia HSD, por dois anos. As melhores linhagens foram multiplicadas durante a safra de inverno e seus grãos foram utilizados para a preparação de extratos, sendo submetidos a testes sensoriais. Em um teste de comparação múltipla, foi feita uma comparação das linhagens selecionadas com sua cultivar original, de forma a verificar se a seleção havia resultado em alguma alteração sensorial. Posteriormente, as três cultivares foram submetidas a um teste sensorial de aceitação onde os extratos mais preferidos de cada cultivar na etapa anterior foram avaliados pelos consumidores em termos afetivos, ou seja, do quanto eles gostavam ou não do produto. Foi observado que todas as cultivares apresentaram variabilidade intracultivar para a aceitabilidade dos extratos, portanto o modelo HSD foi eficiente para a seleção de características sensoriais. O extrato preparado com a linhagem 284-9-20-5 foi preferido aos extratos preparados com os grãos de soja desprovidos de lipoxigenases.

**Palavras-chave:** *Glycine max* (L.) Merrill. Eficiência de Seleção. Ganho Genético. Leite de soja. Soja livre de lipoxigenases. BRS 257 e UEL 175.

### ABSTRACT

The genetic improvement of soybeans for human consumption has sought to release soybean cultivars without lipoxygenases, since these enzymes can lead to the emergence of beany flavour in soybean products. It is well known that the development of a cultivar is both time and money-consuming, so to increase its life cycle in the market it is possible to take

advantage of the intracultivar variation, through the selection of a single plant under ultra-low-density using the Honeycomb Selection Designs (HSD). The work aimed to assess the acceptability of soymilk prepared with grains of lines selected from one normal cultivar (BRS 284) and two lipoxygenase-free cultivars (BRS 257 and UEL 175). For this purpose, individual plants were selected using the HSD methodology over two years. The best lines were multiplied during the winter harvest and their grains were turned into soymilk, then submitted to sensory tests. In a multiple comparison test, the selected lines were compared with their original cultivar in order to check if the selection had caused any sensory alteration. Afterwards, the three cultivars were submitted to an acceptance sensory test where the most preferred extracts of each cultivar in the previous step were evaluated by consumers in affective terms, that is, how much they liked the product or not. It was observed that all cultivars showed intracultivar variability for the acceptability of the extracts, therefore the HSD model was proven to be efficient in the selection for sensory characteristics. The extract prepared with the line 284-9-20-5 was preferred to those prepared with lipoxygenase-free soybean grains.

**Key words:** *Glycine max* (L.) Merrill. Selection Efficiency. Genetic Gain. Soymilk. Lipoxygenase-free Soybean. BRS 257 and UEL 175.

## 5.1 INTRODUÇÃO

Por muitos anos, os programas de melhoramento de soja tinham como objetivo principal desenvolver linhagens mais produtivas e com resistência às principais doenças. Contudo, evidências de que o consumo da oleaginosa pode reduzir riscos de doenças cardiovasculares, osteoporose, alguns tipos de câncer, além de diminuir o nível de colesterol e amenizar os sintomas da menopausa, gerou um crescimento na demanda pelo consumo de alimentos à base de soja (ZANGELMI et al., 1988; MESSINA; GARDNER; BARNES, 2002; KINNEY, 2003; SEDIYAMA, 2009).

Uma das formas em que a soja *in natura* pode ser processada é como extrato ou “leite” de soja, uma substância aquosa extraída dos grãos após hidratação e esmagamento. Esta bebida vem sendo tradicional e largamente consumido no Oriente e, atualmente, pode ser também utilizada como ingrediente funcional em vários alimentos (WANG et al., 1997).

Contudo, apesar dos inúmeros benefícios à saúde, o extrato de soja não encontrou ampla aceitação no Ocidente, devido ao seu sabor característico, em razão da

presença de enzimas denominadas lipoxigenases. Este sabor, que pode ser considerado desagradável, é proveniente da auto-oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados ou da ação enzimática das lipoxigenases, que formam os compostos voláteis responsáveis pelos sabores descritos, de forma geral, como rançoso ou de feijão cru, este último conhecido em inglês como “beany flavour” (JUHÁSZ et al., 2014; LEE et al., 2014; YANG et al., 2016). Como as lipoxigenases estão ativas nos grãos crus, há a necessidade de se realizar um processo térmico para inativar estes compostos, agregando valor aos grãos e produtos derivados (CIABOTTI et al., 2007).

Com o objetivo de se reduzir os custos do processamento da soja, melhorar as características sensoriais e aumentar a aceitação pelo consumidor, melhoristas de soja têm buscado desenvolver cultivares com baixos teores ou livres de lipoxigenases (DOMAGALSKI et al., 1992; SEDIYAMA et al., 1998), processo este que demanda tempo e uma grande utilização de recursos humanos e físicos, além de que, ganhos de produtividade são necessários para que a nova cultivar seja adotada pelos produtores.

Sabe-se que o desenvolvimento de uma nova cultivar é uma atividade demorada e onerosa (TOKATLIDIS, 2015) e que os ganhos genéticos anuais tem sido relativamente pequenos, da ordem de 1 a 2% ao ano (TOLEDO et al., 1990; ALLIPRANDINI et al., 1993; PAGLIOSA, 2016; MEZZALIRA, 2017). Uma alternativa para aproveitar de forma mais eficiente as cultivares comerciais, aumentando sua vida útil no mercado, é a exploração da variação genética intracultivar.

Apesar da sua importância, a exploração da variação genética intracultivar não tem sido amplamente utilizada, devido à crença de que as cultivares elite são altamente homogêneas. Sabe-se que, apesar da homogeneidade destas cultivares, existe uma variação, denominada de variação latente, entre as plantas individuais de uma cultivar, que pode ser causada por diversos fatores como recombinação gênica, *crossing over*, amplificação gênica, entre outros (RASMUSSEN; PHILIPS, 1997). Por conseguinte, Fasoulas e Fasoula (1995) propuseram um novo modelo de seleção, conhecido como *Honeycomb Selection Designs* (HSD), que visa aumentar significativamente o ganho genético anual e maximizar a eficiência de seleção.

O modelo HSD consiste em uma metodologia integrada de melhoramento, que permite a seleção de plantas quanto ao seu potencial produtivo, por meio da avaliação de dois componentes: produtividade e estabilidade. A partição da produtividade em dois componentes, ou seja, genes controlando o potencial produtivo e genes controlando a

capacidade de estabilidade, tem sido fundamental para a eficiência de seleção das plantas “campeãs” de produtividade em cada geração, permitindo o aumento do ganho genético anual e a maximização da eficiência da seleção (FASOULA, 2013).

Tokatlidis et al. (2004), utilizando o modelo HSD para selecionar linhagens dentro de uma cultivar de trigo (*Triticum aestivum* L.) quanto à produtividade, conteúdo de proteína e conteúdo de cinzas, verificaram que o modelo foi efetivo na seleção para produtividade, tanto em condições de ausência de competição (11.547 plantas ha<sup>-1</sup>), quanto em condições de competição intraespecífica (5.000.000 plantas ha<sup>-1</sup>); contudo para as demais características, o método não apresentou a mesma eficiência. Semelhantemente, Kulkarni (1991), utilizando o modelo de seleção HSD para selecionar linhagens de *Artemisia palles* quanto à produtividade, conteúdo e qualidade de óleo, e peso de planta, observou que houve um aumento na produtividade sem, contudo, afetar o teor e a qualidade do óleo.

Já em soja, Fasoula e Boerma (2005, 2007), utilizando a seleção divergente em ultrabaixa densidade (1,4 plantas m<sup>-2</sup>) pelo modelo HSD, para teores de óleo e proteína, entre outras características, observaram que as plantas irmãs individuais obtiveram teores diferentes aos das cultivares originais, sendo que algumas superaram estes teores, sugerindo que as cultivares não são registros permanentes com variação inexistente, mas sim materiais genéticos que podem ser melhorados. Contudo, não há trabalhos na literatura avaliando a eficiência do método quanto à seleção para características relacionadas à melhoria da aceitação de produtos derivados de soja pelo consumidor. Sabe-se que a qualidade sensorial dos produtos consiste em um fator de grande importância e que pode ser decisiva na escolha de bebidas à base de soja pelo consumidor, especialmente atributos relacionados ao sabor, que se sobrepõem às demais propriedades sensoriais do produto (BORRMANN et al., 2006).

Desta forma, o objetivo do trabalho foi avaliar a aceitabilidade de extratos de soja, produzidos a partir de grãos de linhagens selecionadas em ultrabaixa densidade pelo modelo de seleção *Honeycomb Selection Designs*, dentro de uma cultivar comum e de duas cultivares desprovidas de lipoxigenases, em comparação com as cultivares originais

## 5.2 MATERIAL E MÉTODOS

Três cultivares de soja, sendo duas cultivares desprovidas de lipoxigenases (BRS 257 e UEL 175) e uma cultivar comum (BRS 284), foram objetos de estudo, tendo passado por um processo de seleção sob ultrabaixa densidade para melhorar o rendimento de

grãos. A cultivar BRS 257, lançada em 2005, é convencional, do grupo de maturação (GM) = 6.7 e tipo de crescimento determinado. Contém cerca de 40,6% de proteína e apresenta como características relevantes a resistência aos nematoides de galhas *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica* e a ausência das três enzimas lipoxigenases (isoenzimas L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub> e L<sub>3</sub>), permitindo a obtenção de produtos para a alimentação humana sem “beany flavor” (EMBRAPA SOJA, 2018). A cultivar UEL 175 é convencional do GM= 6.7, de crescimento determinado, teor médio de proteína de 38,6%, e apresenta como principal característica a ausência das três lipoxigenases (CARPENTIERI-PIPOLO, 2015). Já a cultivar BRS 284 é convencional, de ciclo precoce, GM = 6.4, tipo de crescimento indeterminado, apresenta alto potencial produtivo, resistência ao nematoide de galhas *Meloidogyne javanica* e possui, como características indesejáveis, o acamamento excessivo (ACM=4.0) e porcentagem de proteína abaixo de 40% (%P = 38,7) (EMBRAPA SOJA, 2018).

### 5.2.1 Seleção em Ultrabaixa Densidade pelo Modelo *Honeycomb Selection Designs*

As cultivares foram avaliadas durante dois anos agrícolas (2014/15 e 2015/16), em dois ambientes contrastantes [Londrina-PR (23° 20' LS e 51° 18' LW) e Ponta Grossa-PR (25° 17' LS, 50° 09' LW)], sob ultrabaixa densidade, utilizando o modelo de seleção *Honeycomb Selection Designs* (HSD) (Apêndice D). O modelo HSD proposto por Fasoulas e Fasoula (1995), consiste na seleção de plantas individuais a partir do Índice de Rendimento de Planta Individual, estimado com base na comparação com o rendimento das plantas vizinhas, e o Índice de Estabilidade, estimado com base na média e no desvio padrão de cada linhagem (FASOULA, 2013).

As três melhores linhagens, selecionadas após os dois anos de avaliação em ultrabaixa densidade, foram multiplicadas durante a safra de inverno no ano de 2016. Os grãos foram processados para obtenção de extratos de soja, os quais foram submetidos a testes sensoriais.

### 5.2.2 Análise Sensorial do Extrato de Soja

Para verificar se as características sensoriais das cultivares originais sofreriam alteração durante o processo de seleção, em relação às cultivares originais, foram realizados os testes de comparação múltipla e de aceitação. A matriz alimentar escolhida para

o teste foi o extrato de grãos de soja, conhecido como “leite” de soja, pois neste produto é possível avaliar o sabor do grão, praticamente livre de outros atributos, como aparência ou textura.

Para ambos os testes, o extrato foi preparado de forma padronizada e sem adição de quaisquer outros ingredientes que pudessem interferir no sabor. Utilizou-se um equipamento próprio para produção doméstica de extratos vegetais, o *Joyoung Multifunctional Soymilk Maker*, que executa ciclos de aquecimento e trituração dos grãos de soja em água, seguindo vários programas automáticos pré-estabelecidos.

Para isso, uma porção de 160g de grãos de soja foi lavada em uma peneira sob água corrente, escorrida e colocada dentro do equipamento, ao qual foi adicionada água potável até o nível de 1200 mL. Após fechamento, o equipamento foi conectado à rede de energia e o programa selecionado foi aquele denominado “grains”, cujo processamento finaliza em 22 min. Na etapa seguinte, fez-se a filtração em tecido de algodão, para separar o extrato (fase líquida) do resíduo (partículas sólidas). Para cada uma das amostras, foram processadas ao menos três bateladas e as porções de extrato (650 a 700 mL) foram misturadas, homogeneizadas e acondicionadas em garrafas plásticas de 1 L, que foram armazenadas em freezer. Na véspera dos testes, as amostras foram deixadas à temperatura ambiente para descongelar. Uma vez no estado líquido, foram mantidas em refrigerador até o momento de serem servidas.

A equipe de julgadores foi recrutada entre os empregados, parceiros e estagiários da Embrapa Soja, sendo constituída por cerca de 50 pessoas adultas, de ambos os sexos. Os julgadores não receberam nenhum treinamento prévio. A avaliação foi realizada em cabines individuais, sendo verificado se o julgador estava suficientemente esclarecido a respeito das amostras oferecidas e da ficha de avaliação (Apêndice E).

A estratégia usada para avaliação sensorial foi dividi-la em duas etapas. Na primeira, foi feita uma comparação das linhagens selecionadas com sua cultivar original, considerando-se esta última como um padrão ou referência, para verificar se a seleção resultou em alteração da aceitação sensorial. Na segunda etapa, foram avaliadas as três cultivares, cada uma delas representada pela amostra preferida na etapa anterior.

Todas as linhagens selecionadas por suas características agronômicas estavam disponíveis em quantidade suficiente para os testes sensoriais. Porém, os julgadores apresentam uma limitação ao número de amostras provadas numa mesma sessão, pois ocorre uma saturação das papilas gustativas que dificulta a percepção dos atributos. Por isso, na

primeira etapa, optou-se por limitar a quatro o número de amostras por sessão. Foram então utilizadas como amostras, os extratos produzidos a partir dos grãos das cultivares originais e das seguintes linhagens: 257-32-9-2, 257-355-19-4 e 257-324-20-5; 175-245-11-2, 175-122-12-3 e 175-101-13-4; 284-32-17-3, 284-85-19-4 e 284-9-20-5.

O teste de comparação múltipla foi realizado em três sessões, ocorridas em dias consecutivos, cada dia com uma cultivar e suas variantes. Seu objetivo foi avaliar várias amostras quanto à preferência. Na primeira parte da ficha, as amostras em questão deveriam ser identificadas como igual ao padrão (“preferida igual a R”) ou diferente deste (“mais preferida que R” ou “menos preferida que R”). Em seguida, era quantificada a intensidade desta preferência: se igual, intensidade “nenhuma”, se diferente, intensidade variando de pequena a extrema (Figura 5.1).

**TESTE DE COMPARAÇÃO MÚLTIPLA**

Nome: ..... Ramal: .....

Data: ...../...../.....

Você está recebendo amostras de extrato (“leite”) de soja, sendo uma de referência (R) e outras quatro codificadas, cujos números devem ser anotados na primeira linha da tabela abaixo. Por favor, prove a amostra de referência (R) e depois as amostras codificadas, da esquerda para a direita. Compare as amostras com a referência e classifique como de igual preferência, mais preferida ou menos preferida. Classifique também a intensidade da preferência, de acordo com a escala apresentada.

Obs: Entre as avaliações, lave a boca com água. Se necessário, peça mais um pouco da amostra de referência.

<b>Amostras</b>				
Mais preferida que R				
Preferida igual a R				
Menos preferida que R				
<b>Intensidade de preferência</b>				
Nenhuma				
Pequena				
Moderada				
Grande				
Extrema				

Comentários: .....

**Figura 5.1** – Ficha de avaliação para o teste de comparação múltipla, onde as amostras oferecidas foram comparadas à amostra de referência (R).

O teste de aceitação foi realizado em apenas uma sessão, onde os melhores extratos de cada cultivar foram avaliados pelos consumidores em termos afetivos, ou seja, se gostavam do produto ou não. Para o teste de aceitação, foram oferecidas aos julgadores as três amostras conjuntamente, e estes receberam uma ficha com uma escala hedônica de nove pontos, onde o julgador deveria expressar sua aceitação em relação a cada amostra, seguindo

a escala previamente estabelecida, que expressa o quanto o provador gosta ou desgosta das amostras (Figura 5.2).

NOME: ..... Ramal: ..... DATA: ...../...../.....

#### TESTE DE ACEITAÇÃO

Avalie as amostras de extrato de soja que você está recebendo e use a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou de cada uma delas.

Amostras:

1. desgostei muitíssimo
2. desgostei muito
3. desgostei regularmente
4. desgostei ligeiramente
5. não gostei nem desgostei
6. gostei ligeiramente
7. gostei regularmente
8. gostei muito
9. gostei muitíssimo

Amostra	Valor

Há alguma característica especial que você gostaria de ressaltar? Algo que você gostou ou desgostou em alguma(s) das amostras recebidas?

.....

.....

.....

**Figura 5.2** – Ficha de avaliação para o teste de aceitação utilizando a escala hedônica de nove pontos.

Os dados obtidos nos testes sensoriais foram submetidos à análise de variâncias e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. As análises foram realizadas com o auxílio computacional do *software* estatístico R (R CORE TEAM, 2016)

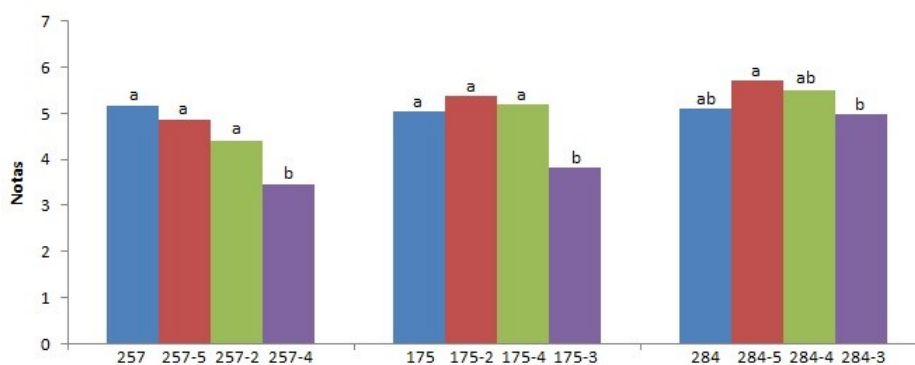
### 5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi possível identificar, pela avaliação sensorial, variação intracultivar significativa para aceitabilidade de extratos de soja feito a partir dos grãos de linhagens selecionadas dentro de cultivares de soja consideradas homogêneas, como a BRS 284. Na Figura 5.3, observa-se que a amostra preparada com os grãos da linhagem 284-9-20-5 foi mais preferida que as demais (média 5,73), não diferindo estatisticamente das amostras 284-85-19-4 (5,51) e original (5,10). A amostra 284-32-17-3 foi a menos preferida (5,00).

Para a cultivar UEL 175, verificou-se que o extrato preparado a partir da linhagem 175-245-11-2 obteve a média mais alta (5,40), não diferindo estatisticamente das

amostras 175-101-13-4 (5,21) e da original (5,06), enquanto a amostra 175-122-12-3 foi menos preferida que as demais (média 3,83).

Já para a cultivar BRS 257, a amostra original foi a que apresentou a maior preferência (média 5,16), não diferindo estatisticamente das amostras 257-32-9-2 (4,42) e 257-324-20-5 (4,86), ao passo que a amostra 257-355-19-4 foi menos preferida que as demais (3,47).

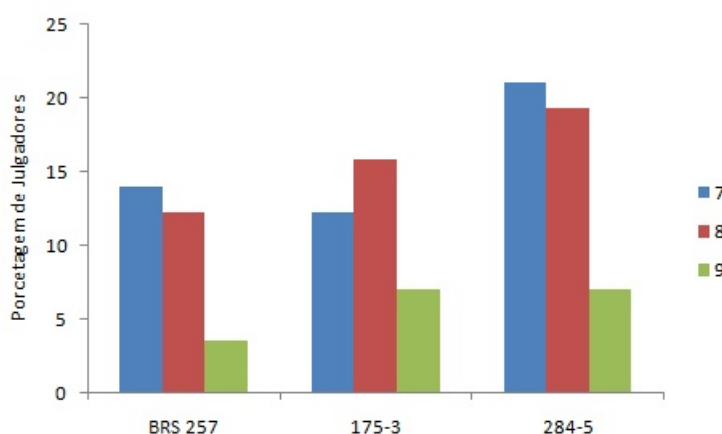


**Figura 5.3-** Valores médios das notas atribuídas pelos julgadores quanto à intensidade de preferência de extratos de soja preparados a partir de grãos de linhagens selecionadas em ultrabaixa densidade pelo modelo *Honeycomb Selection Designs*, dentro das cultivares BRS 257, UEL 175 e BRS 284, durante dois anos.

\*Médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Na Figura: 257: BRS 257; 257-5: 257-324-20-5; 257-2: 257-32-9-2; 257-4: 257-355-19-4; 175: UEL 175; 175-2: 175-245-11-2; 175-4: 175-101-13-4; 175-3: 175-122-12-3; 284: BRS 284; 284-5: 284-9-20-5; 284-4: 284-85-19-4; 284-3: 284-32-17-3.

Para escolha das amostras que seguiriam para a segunda etapa da avaliação sensorial, havia sido definida como critério, a preferência obtida no teste de comparação múltipla. Porém, em nenhum dos casos houve uma única amostra preferida, e então foi adicionado como segundo critério, a produtividade a campo (dados não apresentados). Para a BRS 257, foram igualmente preferidas à original e as linhagens 257-324-20-5 e 257-32-9-2 e, assim, foi selecionada a BRS 257 original (a mais produtiva). A BRS 284 original obteve a mesma preferência que as linhagens 284-85-19-4 e 284-9-20-5, tendo sido esta última a escolhida. Excepcionalmente, no caso da cultivar UEL 175, nenhuma das três amostras empatadas na preferência havia se destacado no quesito rendimento, portanto selecionou-se a amostra 175-122-12-3 devido ao seu melhor desempenho produtivo.

As três amostras selecionadas, cada uma representando uma cultivar, foram submetidas a um teste de aceitação pelo mesmo grupo de julgadores, recebendo notas de 1 a 9. De acordo com a análise de variância, não houve diferença significativa entre as três amostras (média de 5,21 para a cultivar BRS 257; 5,47 para a linhagem 175-122-12-3; 5,67 para a linhagem 284-9-20-5). Embora as médias tenham sido muito próximas, observou-se pelas respostas individuais que, enquanto alguns deram nota alta para uma amostra e baixa para outra, outros julgadores apresentaram comportamento completamente oposto. Deste modo, a média encobre o fato de que as amostras podem agradar a diferentes públicos. Na Figura 5.5 estão representadas o percentual de julgadores que atribuíram notas altas, entre 7 e 9, para cada amostra. Analisando a figura, verifica-se que a amostra 284-9-20-5 apresentou, aproximadamente, 47% de todas as notas atribuídas pelos julgadores entre 7 e 9, ou seja, quase metade dos julgadores gostaram regularmente, muito ou muitíssimo da amostra. Já as mostras BRS 257 e 175-122-12-3 apresentaram, pelo mesmo critério, porcentagens de 30% e 35%, respectivamente, demonstrando que, apesar de as médias entre as amostras não diferirem estatisticamente entre si, houve uma maior aceitação pela linhagem derivada da BRS284.



**Figura 5.4** – Porcentagem de julgadores que atribuíram notas entre 7 e 9 no teste de aceitação de amostras de extrato de soja preparado com a cultivar BRS 257 e com as linhagens 175-122-12-3 e 284-9-20-5.

\*Na Figura: 175-3: 175-122-12-3; 284-5: 284-9-20-5.

Outros estudos demonstraram a existência de variação intracultivar para características como produtividade, massa de grãos, altura de planta, teor de proteína nos grãos, prolificidade, entre outras, em diversas outras culturas como feijão (TOKATLIDIS et

al., 2010), cevada (GREVENIOTIS et al., 2009), trigo (TOKATLIDIS et al., 2004) e milho (GREVENIOTIS; FASOULA, 2016). Em soja, Fasoula e Boerma (2005) avaliaram por meio de seleção divergente em plantas individuais em baixa densidade, a presença de variação genética para conteúdo de óleo, proteína e composição de ácidos graxos em três cultivares elite de soja (“Benning”, “Haskell” e “Cook”). Os autores observaram que a seleção de plantas individuais em ultrabaixa densidade foi eficiente em identificar variação significativa para concentração de óleo e proteína nas três cultivares de soja, onde a magnitude da variação intracultivar entre o maior e o menor conteúdo de proteína foi de  $19 \text{ g kg}^{-1}$  e entre o maior e o menor conteúdo de óleo foi de  $12 \text{ g kg}^{-1}$ .

Semelhantemente, Fasoula e Boerma (2007) investigando a presença de variação para peso de sementes, dias para maturação, altura de plantas, resistência ao acamamento e produtividade dentro de cultivares elite de soja, lançadas devido a sua produtividade superior e resistência a doenças, utilizando o modelo HSD, observaram que, para peso de sementes, a magnitude da variação intracultivar foi em média de  $36 \text{ mg semente}^{-1}$  para a cultivar “Benning”,  $22 \text{ mg semente}^{-1}$  para “Cook” e  $45 \text{ mg semente}^{-1}$  para “Haskell”. Para dias para maturação as diferenças foram de 5, 4 e 7 dias para “Benning”, “Cook” e “Haskell” respectivamente. Diferenças significativas também foram encontradas para altura de plantas e acamamento.

Embora comprovada a existência da variação intracultivar para diversas características agronômicas de interesse, existem poucos estudos visando a exploração desta variação com o objetivo de se selecionar linhagens de soja com melhores características sensoriais. Das três cultivares avaliadas no presente trabalho, duas delas são livres das enzimas lipoxigenases (triplo nulo). No entanto, ao avaliar a aceitação de extratos de soja preparados a partir das sementes de linhagens de soja selecionadas em ultrabaixa densidade, foi preferida justamente a cultivar BRS 284, a única que não era livre de lipoxigenases.

Estudos sobre o sabor/aroma da soja - seus componentes indesejáveis e os mecanismos de sua formação, as quantidades presentes variando em função da cultivar e do processamento utilizado, etc. - vem sendo realizados desde a década de 1970 (KANEKO et al., 2011). Apesar disso, ainda não se pode prever com segurança qual o resultado de aceitação sensorial de uma determinada cultivar de soja, seja *in natura* ou processada. Isto se deve ao fato de que o sabor da soja é bastante complexo e depende de inúmeros fatores: alguns deles são intrínsecos e estão associados a compostos presentes (ou não) no grão, como saponinas, isoflavonas ou outros compostos fenólicos (ALDIN; REITMEIER; MURPHY,

2006); outros fatores se relacionam com o processamento empregado na elaboração dos diferentes derivados de soja (por exemplo, a realização de tratamento térmico prévio para inativação de enzimas ou a utilização de equipamentos para retirada de compostos voláteis indesejáveis) e com a adição de ingredientes na formulação, que podem mascarar o sabor final do produto; a aceitação de um produto depende ainda do público consumidor, com suas preferências, hábitos e padrões culturais. Assim, os resultados encontrados por diferentes pesquisadores quanto à aceitação sensorial de cultivares de soja podem variar grandemente.

Diversos trabalhos afirmam que há uma maior aceitabilidade de bebidas quando estas são preparadas com cultivares livres de lipoxigenases. Silva et al. (2007), avaliaram a aceitabilidade de bebidas obtidas a partir de extratos de soja em pó, dois deles comerciais, e um produzido a partir de cultivar desprovida de enzimas lipoxigenases sendo que esta última bebida obteve as maiores notas de aceitação. Semelhantemente, Gomes et al. (1995) verificaram que extratos de soja obtidos de cultivares desprovidas das isoenzimas L3 e de L2 e L3, apresentaram sabor de feijão cru menos intenso.

Yang et al. (2016) avaliaram a aceitabilidade de bebida de soja e de tofu preparados com cultivares com e sem lipoxigenase e observaram que sua ausência resultou em alimentos mais aceitáveis aos consumidores, uma vez que diminuíram “notas” sensoriais negativas (sabor amargo e odores indesejáveis, como os de “ranço” e “verde”), enquanto aumentaram as “notas” sensoriais positivas (como “doçura” e aroma de “grãos frescos”). Além disso, estes autores relataram diferentes resultados obtidos por um painel formado com usuários tradicionais de soja (chineses) e por outro de não usuários (australianos). No primeiro grupo, produtos com sabor mais suave foram menos aceitos, pois o provador associa o sabor da soja a todas estas características mais acentuadas, enquanto no segundo grupo ocorre o contrário. Isto indica que, para o mercado australiano, poderia ser muito recomendada a utilização de cultivares livres de lipoxigenase para as mais variadas aplicações na indústria de alimentos, enquanto para o mercado chinês poderia não ser vantajoso.

Outros estudos relatam que a ausência de lipoxigenases não influenciou na aceitação do “leite” de soja. Ma et al. (2015), trabalhando com duas linhagens de soja isogênicas (com e sem lipoxigenases), não encontraram correlação significativa entre as linhagens desprovidas de lipoxigenase e os atributos de sabor avaliados no estudo; para estes autores, a utilização de cultivares que não apresentam uma ou mais isoenzimas pode resultar em extrato de soja com menor quantidade de compostos voláteis, porém outros sabores indesejáveis podem permanecer.

King et al. (2001) investigaram a utilização de derivados de soja (farinha, concentrado e isolado) obtidos de cultivares com e sem lipoxigenase, os quais foram adicionados, respectivamente, em formulações de pães, bolinhos de carne moída e bebidas. Não foram detectadas diferenças entre os controles (soja comum) e os demais produtos (soja sem lipoxigenase). Isto não foi surpresa no caso dos pães e bolinhos, por constituírem sistemas mais complexos, onde a presença dos outros ingredientes poderia mascarar o sabor de “feijão cru”, mas mesmo nas bebidas não se evidenciou esta diferença, que é frequentemente relatada em estudos com bebida de soja ou com tofu.

Os resultados de Ciabotti et al. (2007) evidenciaram que o extrato obtido de soja sem lipoxigenase foi melhor aceito que o de soja comum, porém para tofu não foi detectada diferença, fato que os autores atribuíram à remoção do soro no processamento do tofu, o que teria contribuído para a eliminação de compostos hidrossolúveis que poderiam causar sabores indesejáveis.

Contudo, outro aspecto importante da atuação das lipoxigenases, que tem grande influência sobre os produtos derivados de soja, é o que se relaciona com a sua capacidade para co-oxidar substratos (carotenóides, tocoferóis, clorofila, proteínas, etc.), sendo responsável pela iniciação de novos processos oxidativos (HAMILTON et al., 1983). A oxidação de ácidos graxos polinsaturados, promovida pelas lipoxigenases, produz hidroperóxidos, que são moléculas bastante instáveis e se fragmentam em aldeídos, cetonas e álcoois. Durante o processo de oxidação via lipoxigenases, radicais livres são formados, os quais podem atacar outros constituintes do alimento, resultando na diminuição do tempo de prateleira do produto (LIU, 1997; CARVALHO, et al., 1999).

Kaneko et al. (2011) compararam algumas cultivares japonesas predominantes no mercado, realizando um detalhado estudo do aroma em “leite” de soja, pela técnica AEDA (*Aroma Extract Dilution Analysis*), para tentar esclarecer quais os compostos chave para o sabor/aroma da soja. Verificaram assim a presença de 20 compostos responsáveis pelo aroma característico da soja, oriundos não apenas de lipídios, como também de aminoácidos, açúcares e de ácido ferúlico. De acordo com estes autores, apesar da grande quantidade de trabalhos focados na importância da ação das lipoxigenases sobre o sabor do extrato de soja, existem outros fatores também relevantes. Eles citam especialmente os resultados de um grupo de pesquisadores japoneses, Shimada et al. (1998 e 2001), que observaram menor aceitação sensorial de tofu obtido com cultivares sem lipoxigenase em comparação com cultivares comuns; este fato foi explicado pela diminuição do sabor doce e

diferente sensação na boca, de onde concluíram que a preferência não é influenciada apenas pelos sabores indesejáveis, mas pela presença de outros compostos com sabor agradável.

Xiaodi et al. (2015), estudando a correlação entre os índices físico-químicos e os atributos de sabor em extratos de soja preparados com 67 diferentes cultivares, verificaram que o sabor de “feijão cru” apresentou correlação negativa com o teor de proteína e positiva com o teor de ácidos graxos nos grãos. Segundo os autores, os perfis de sabor do leite de soja podem diferir de acordo com os diferentes componentes presentes nos grãos, sendo que esses componentes podem interagir uns com os outros, tornando o sabor da soja algo complexo de se lidar e prever.

Portanto, de acordo com os resultados encontrados na literatura, não deve parecer estranho que os extratos preparados com os genótipos 175-3 e BRS 257 tenham apresentado uma menor preferência pelos consumidores, enquanto a maior aceitação foi alcançada pelo extrato de soja preparado a partir da linhagem 284-5, o único dos genótipos contendo lipoxigenases, pois uma vez que o sabor pode estar relacionado a outros fatores que não apenas a ausência de lipoxigenases. Não serão levantadas hipóteses para explicar o ocorrido, uma vez que não foram quantificados nos genótipos em questão outros componentes que poderiam estar envolvidos na formação do sabor, como as saponinas, as isoflavonas ou outros compostos fenólicos, deixando-se estes aspectos para uma possível investigação futura.

#### 5.4 CONCLUSÕES

Os genótipos BRS 284, BRS 257 e UEL 175 e apresentaram variação genética intracultivar para a aceitabilidade de extratos de soja, mostrando a possibilidade de acessar essa variabilidade através da seleção em ultrabaixa densidade pelo modelo *Honeycomb Selection Designs*.

O extrato obtido a partir da linhagem 284-9-20-5 apresentou maior aceitação do que os extratos preparados com grãos provenientes de genótipos livres de lipoxigenase.

## 5.5 REFERÊNCIAS

- ALDIN, E.; REITMEIER, C. .; MURPHY, P. Bitterness of soy extracts containing isoflavones and saponins. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 3, p. 211-215, 2006.
- ERICA ALDIN, CHERYLL ANN REITMEIER, AND PATRICIA
- ALLIPRANDINI, L. F.; TOLEDO, J. F. F.; FONSECA JUNIOR, N. S.; KIIHL, R. A. S. Ganho genético em soja no Estado do Paraná, via melhoramento no período de 1985/86 a 1989/90. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 489-497, 1993.
- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação Agrícola**. 4.ed. FUNEP: Jaboticabal, 2015. 237p.
- BENEDETTI, A. C. E. P.; FALCÃO, D. P. Monitoramento da qualidade higiênico-sanitária no processamento do "leite" de soja na UNISOJA. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p.200-205, 2003.
- BORRMANN, D. et al. Avaliação sensorial de bebidas a base de extrato hidrossolúvel de soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIENCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 20., 2006, Curitiba, PR. **Anais...** Curitiba: SBCTA, 2006. 1 CD-ROM.
- CARPENTIERI-PIPOLO, V. UEL 175: a novel lipoxygenase-freesoybean cultivar with kunitz trypsin inhibitor absence. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 15, p. 191-192, 2015.
- CARVALHO, W. L.; OLIVEIRA, M. G. A.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Lipoxygenases affect protease inhibitor levels in soybean seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 37, n. 6, p. 497-501, 1999.
- CIABOTTI, S.; BARCELOS, M. F. P.; PINHEIRO, A. C. M.; CLEMENTE, P. R.; LIMA, M. A. C. Características sensoriais e físicas de extratos e tofus de soja comum processada termicamente e livre de lipoxigenase. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 27, v. 3, p.: 643-648, 2007.
- DOMAGALSKI, J. M., KOLLIPARA, K. P., BATES, A. H., BRANDON, D.L.,FRIEDMAN, M., HYMOWITZ, T. Nulls for the major soybean Bowman-Birk protease inhibitor in the genus Glycine. **Crop Science**, v. 32, p. 1502- 1505, 1992.
- EMBRAPA SOJA. **Portifólio Embrapa de cultivares de soja**, 2018. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/convencional/cultivares>>. Acessoem: 12 mar 2018.
- FASOULA, D. A. Nonstop selection for high and stable crop yield by two prognostic equations to reduce yield losses.**Agriculture**, v. 2, p. 211-227, 2012.
- FASOULA, V. A. Prognostic breeding: A new paradigm for crop improvement. **Plant Breeding Reviews**, v. 37, p. 297-347, 2013.
- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R. Divergent selection at ultra-low plant density for seed protein and oil content within soybean cultivars. **Field Crops Research**, v. 91, p. 217–229, 2005.
- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R. Intra-cultivar variation for seed weight and other agronomic traits within three elite soybean cultivars. **Crop Science**, v. 47, p. 367–373, 2007.
- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R.; YATES, J. L.; WALKER, D. R.; FINNERTY, S. L.; ROWAN, G. B.; WOOD, E. D. Registration of five soybean germplasm lines selected within

- the cultivar 'Benning' differing in seed and agronomic traits. **Journal of Plant Registrations**, v. 1, p. 156-157, 2007a.
- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R.; YATES, J. L.; WALKER, D. R.; FINNERTY, S. L.; ROWAN, G. B.; WOOD, E. D. Registration of seven soybean germplasm lines selected within the cultivar 'Cook' differing in seed and agronomic traits. **Journal of Plant Registrations**, v. 1, p. 158-159, 2007b.
- FASOULA, V. A.; BOERMA, H. R.; YATES, J. L.; WALKER, D. R.; FINNERTY, S. L.; ROWAN, G. B.; WOOD, E. D. Registration of six soybean germplasm lines selected within the cultivar 'Haskell' differing in seed and agronomic traits. **Journal of Plant Registrations**, v. 1, p. 160-161, 2007c.
- FASOULAS, A.C.; FASOULA, V. A. Honeycomb selection designs. **Plant Breeding Reviews**, v. 13, p. 87-139, 1995.
- FRIEDMAN, M.; BRANDON, D. L. Nutritional and health benefits of soy proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 3, p.1069-1086, 2001.
- GOMES, J.C.; JOSÉ, I.C.; COELHO, D.T.; CHAVES, J.B.P.; REZENDE, S.T. Extratos hidrossolúveis produzidos de soja sem lipoxigenases. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.15, p.95-103, 1995.
- GREVENIOTIS, V.; FASOULA, V. A. Application of prognostic breeding in maize. **Crop & Pasture Science**, v. 67, p. 605-620, 2016.
- GREVENIOTIS, V.; XANTHOPOULOU, O., PESSIOS, E.; DELIGEORGIDIS, P.; STEFANIS, D.; IPSILANDIS, C.G. honeycomb evaluation of barley germplasm under pre-evaluated environments. **Cereal Research Communications**, v. 37, n. 4, p. 567-574, 2009.
- HAMILTON, R. J.; ROSSELL, J. B.; HUDSON, B. J. F.; LÖLIGER, J. In **Rancidity in Foods**; ALLEN J. C., HAMILTON R. J., Ed.; Applied Science Publishers LTD.; London, 1983, p .1.
- JUHÁSZ, A. C. P.; CIABOTTI, S.; PÁDUA, G.P.; FAVORETO, L.; JESUS, A.M.S.; FRONZA, V. Melhoramento de soja para a alimentação humana. **Informe Agropecuário**, v. 35, p. 39-45, 2014.
- KING, J.M.; CHIN, S.M.; SVENDSEN, L.K.; REITMEIER, C.A.; JOHNSON, L.A.; FERH, W.R. Processing of lipoxygenase-free soybeans and evaluation in foods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.78, p.353-360, 2001.
- KINNEY, A. J. Engineering soybeans for food and healthy. **AgBio Forum**, v. 6, p. 18-22, 2003.
- KULKARNI, R. N. Three cycles of honeycomb selection for herb yield in davana (*Artemisiapallens* Wall.). **Euphytica**, v. 52, p. 99-102, 1991.
- LANZA, M. A. **Marcadores moleculares RAPD na introgressão de genes para ausência de lipoxigenases e da proteína A5A4B3 em soja (*Glycine max*(L.) Merrill)** 1995. 57 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1995.
- LEE, K.J.; HWANG, J.E.; VELUSAMY, V.; HA, B.; KIM, J.; KIM, S.H.; AHN, J.; KANG, S.; · KIM, D.S. Selection and molecular characterization of a lipoxygenase-free soybean mutant line induced by gamma irradiation. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 127, p. 2405-2413, 2014.

LEITE, P.R.S.C.; MENDES, F.R.; PEREIRA, M.L.R.; LACERDA, M.J.R. Limitações da utilização da soja integral e farelo de soja na nutrição de frangos de corte. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 15, p. 1138-1157, 2012.

LIU, C.F.; PAN, T.M. Beneficial Effects of bioactive peptides derived from soybean on human health and their production by genetic engineering. In: EL-SHEMY, H. **Soybean and health**. China: Intech, 2011. p. 311-328.

LIU, K. **Soybeans – Chemistry, technology and utilization**. New York: Chapman Hall, 1997. 532p.

MA, L.; LI, B.; HAN, F.; YAN, S.; WANG, L.; SUN, J. Evaluation of the chemical quality traits of soybean seeds, as related to sensory attributes of soymilk. **Food Chemistry**, v. 173, p. 694–701, 2015.

MENEGUCE, B. et al. Interação genótipo x ano para tempo de cozimento e sua correlação com a massa e percentagem de embebição em soja tipo alimento. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 4, p. 463-476, 2005.

MESSINA, M.; GARDNER C.; BARNES, S. Gaining insight into the health effects of soy but a long way still to go. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 547S-551S, 2002.

MEZZALIRA, I. **Ganho genético para produtividade de grãos de soja na região central do Brasil**. 2017. 44 f. Dissertação (Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.

MORAES, R.M.A.; JOSÉ, I.C.; RAMOS, F.G.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Caracterização bioquímica de linhagens de soja com alto teor de proteína. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 5, p. 725-729, 2006.

MORIWAKI, C.; MATIOLI, G. Influência da  $\beta$ -galactosidase na tecnologia do leite e na má digestão da lactose. **Arquivo Ciências da Saúde**, v. 4, n. 3, p. 283-290, 2000.

NAVICHA, W.B.; HUA, Y.; MASAMBA, K.; KONG, X.; ZHANG, C. Optimization of soybean roasting parameters in developing nutritious and lipoxygenase free soymilk. **Food Measure**, v. 11, p. 1899–1908, 2017.

PAGLIOSA, E. S. **Ganho genético em soja na região meridional do Brasil**. 2016. 121 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

R CORE TEAM (2016). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

SAVAGE, W.D.; SUTHERLAND, J.W.; SCHMIDT, S.J. Biologically active compounds inactivation and protein insolubilization during heat processing of soybeans. **Journal of Food Science**, v.60, n. 1, p. 164–169, 1995.

SEDIYAMA, C. S.; QUEIROZ, L. R.; MOREIRA, M. A.; REZENDE, S. T. Aldehyde production and physiological quality of soybean seeds lacking lipoxygenase isozymes. In: **WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE**. Kasetsart University Press, p. 441-446, 1998.

SEDIYAMA, T. **Tecnologias de produção e usos da soja**. Londrina: Mecenaz, 2009. 314 p.

SHIMADA, K.; NOMURA, H.; HARA, Y.; FUJIMOTO, F.; KITAMURA, K. Effect of soybean lipoxygenase on sensory taste of tofu (in Japanese). **Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi**, v. 45, p. 122–128, 1998.

- SHIMADA, K.; INUYAMA, Y.; MORISHITA, M.; TAKAHASHI, R.; KITAMURA, K. Effect of lipid-oxidation products on sensory taste of tofu (in Japanese). **Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi**, v. 48, p. 253–262, 2001.
- SILVA, J. B.; PRUDÊNCIO, S. H.; FELBERG, I.; DELIZA, R.; CARRÃO-PANIZZI, M. C. Aceitabilidade de bebidas preparadas a partir de diferentes extratos hidrossolúveis de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.12, p.1779-1784, 2007.
- TOKATLIDIS I.S.; PAPADOPOULOS, I.I.; BAXEVANOS, D.; KOUTITA, O. Genotype × environment effects on single-plant selection at low density for yield and stability in climbing dry bean populations. **Crop Science**, v. 50, p. 775–783, 2010.
- TOKATLIDIS, I. S. Conservation breeding of elite cultivars. **Crop Science**, v. 55, p. 1-18, 2015.
- TOKATLIDIS, I. S.; TSIKRIKONI, C.; LITHOURGIDIS, A. S.; TSIALTAS, J. T.; TZANTARMAS, C. Intra-cultivar variation in cotton: response to single plant yield selection at low density. **Journal of Agricultural Science**, v. 149, p. 197–204, 2011.
- TOKATLIDIS, I.S.; TSIALTAS, J.T.; XYNIAS, I.N.; TAMOUTSIDIS, E.; IRAKLI, M. Variation within a bread wheat cultivar for grain yield, protein content, carbon isotope discrimination and ash content. **Field Crops Research**, v. 86, p. 33–42, 2004.
- TOLEDO, J. F. F.; ALMEIDA, L. A.; KIIHL, R. A. S.; MENOSSO, M. G. Ganho genético em soja no Estado do Paraná, via melhoramento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 25, p. 89-94, 1990.
- TORRES-PENARANDA, A. V.; REITMEIER, C. A. Sensory descriptive analysis of soymilk. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 2, p. 352-356. 2001.
- WANG, S. ; BIET, K. R. A.; BARROS, L. M.; SOUZA, N. L. Efeito da proporção soja: água e aquecimento sobre o rendimento e qualidade protéica do leite de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n. 10, p. 1059-1069, 1997.
- YANG, A.; SMYTH, H.; CHALIHA, M.; JAMES, A. Sensory quality of soymilk and tofu from soybeans lacking lipoxygenases. **Food Science & Nutrition**, v. 4, n. 2, p. 207–215, 2016.
- ZANGELMI, A. C. B.; TAGIOLATO, M. A.; DIAS, E. L.; LANGE, D. A. Produtos de soja: leite, farinha e outros. Série Tecnologia Industrial, v. 10. São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia, 1988.

## 6 CONCLUSÕES GERAIS

A seleção de planta individual em ultrabaixa densidade utilizando o modelo de seleção *Honeycomb Selection Designs* foi efetiva em identificar variação genética intracultivar para rendimento de grãos dentro de cultivares elite de soja, em dois anos de seleção. Além disso, foi encontrada variação genética para outras características agronômicas de interesse, tais como altura de plantas, dias para o florescimento, dias para a maturação, acamamento e massa de 100 sementes.

### **Cultivar BRS 1001 IPRO**

A linhagem 1001-249-8-3 apresentou bom desempenho, com rendimento médio de grãos numericamente superior à cultivar original em 1,2%, quando avaliada em 14 locais situados na Macrorregião sojícola 2, contudo, não diferindo estatisticamente da mesma. Esta linhagem apresentou diferença estatística significativa para altura de plantas, dias para maturação e massa de 100 sementes, sendo mais baixa, mais tardia e com massa de sementes que a original.

### **Cultivar UEL 175**

A linhagem 175-122-12-3, avaliada sob competição em seis locais da Macrorregião sojícola 2, apresentou rendimento de grãos 5,6% numericamente superior à cultivar original mas não diferiu estatisticamente da mesma. Houve diferença estatística significativa para dias para o florescimento e massa de 100 grãos, sendo que a linhagem apresentou florescimento dois dias mais tardio e massa de 100 sementes 1,6 g superior à cultivar original.

A cultivar UEL 175 também apresentou variação genética intracultivar para produtividade e aceitabilidade de extratos de soja, sendo que a amostra preparada com os grãos da linhagem 175-245-11-2 foi a mais preferida não diferindo estatisticamente da amostra 175-101-13-4 e da cultivar original.

### **Cultivar BRS 257**

Houve variação genética intracultivar significativa entre as linhagens selecionadas dentro da cultivar BRS 257 para as características dias para o florescimento e massa de 100 grãos, sendo que as linhagens floresceram um dia depois da cultivar original e a linhagem 257-355-19-4 apresentou massa de 100 grãos de 18,1 g contra 16,9g da cultivar original.

A cultivar BRS 257, apesar de não ter apresentado variação intracultivar para rendimento de grãos, apresentou para qualidade de bebida, sendo que a cultivar original foi mais preferida pelos julgadores que as linhagens.

#### **Cultivar BRS 284**

A cultivar BRS 284 apresentou variação genética intracultivar para produtividade e aceitabilidade de extratos de soja.

A linhagem 284-32-17-3, avaliada em 10 locais na Macrorregião sojícola1, apresentou rendimento de grãos 3,8% superior a cultivar BRS 284 e diferiu estatisticamente da mesma. A linhagem também foi destaque na Macrorregião sojícola 3, onde em 9 locais de avaliação, apresentou rendimento de grãos 5,7% numericamente superior a BRS 284, não diferindo estatisticamente da mesma. As linhagens 284-85-19-4 e 284-9-20-5 apresentaram bom desempenho, com rendimento de grãos numericamente superior a cultivar original variando de 0,7 a 3,0%, não diferindo estatisticamente da mesma.

A linhagem 284-9-20-5, apesar de apresentar as enzimas lipoxigenases, alcançou maior aceitação sensorial quando comparada com os extratos preparados com as cultivares BRS 257 e UEL 175, ambas livres de lipoxigenase.

As cultivares comerciais de soja têm sido consideradas relativamente homogêneas, ou com variação genética limitada. Nossos resultados sugerem a ocorrência de maior variabilidade do que previamente assumido. A importância em buscar a variação intracultivar é devido às cultivares apresentarem um *pool* de genes altamente adaptado, com resistência às doenças e com boa performance agrônômica, podendo ser melhorado para características agrônômicas de interesse.

## APÊNDICES

## APÊNDICE A

Resistência aos nematóides *Meloidogyne incógnita* (MI) e *Meloidogyne javanica* (MJ); resistência às doenças Cancro da haste (Cancro), Fitofora (Fitof); Pústula bacteriana (PB); e *Cercospora* (CS); teores de óleo e proteína de linhagens selecionadas dentro da cultivar de soja comercial BRS 1001IPRO, em ultrabaixa densidade, pelo modelo *Honeycomb Selection Designs*, comparadas à cultivar original em Londrina (LDA) e em Ponta Grossa (PGA), safra 2015/2016.

<b>BRS 1001IPRO</b>									
Locais	Genótipo	Mi	Mj	Cancro	Fitof	PB	CS	%Óleo	%Prot
LDA/PGA	1001-244-17	ÑG	S	R	S	R	R	25,73	36,40
	1001-165-16	S	R	R	S	R	R	24,27	37,10
LDA	1001-319-7	S	S	R	R/MR	R	R	26,8	33,94
	1001-235-12	S	S	R	S	R	R	25,96	37,57
	1001-176-6	S	S	R	R/S	R	R	27,27	33,19
	1001-249-8	S	S	R	S	R	R	26,7	34,16
	1001-382-15	S	S	R	S	R	R	23,76	37,30
PGA	1001-333-1	S	S	R	R/S	R	R	26,02	34,11
	1001-224-19	MR	MR	R	S	R	R	25,14	35,76
	1001-21-2	MR	S	R	R/R	R	R	26,28	35,58
BRS 1001IPRO		S	MR						

\*Mi: *Meloidogyne incognita*; Mj: *Meloidogyne javanica*; Cancro: Cancro da haste (*Diaporthe aspalathi*); PS: *Phytophthora sojae*; PB: Pústula bacteriana; CS: *Cercospora sojae*.

## APÊNDICE B

Resistência aos nematóides *Meloidogyne incógnita* (MI) e *Meloidogyne javanica* (MJ); resistência às doenças Cancro da haste (Cancro), Fitofora (Fitof); Pústula bacteriana (PB); e *Cercospora* (CS); teores de óleo e proteína de linhagens selecionadas dentro das cultivares de soja BRS 257 e UEL 175, em ultrabaixa densidade, pelo modelo *Honeycomb Selection Designs*, comparadas à cultivar original em Londrina (LDA) e em Ponta Grossa (PGA), safra 2015/2016.

<b>BRS 257</b>									
Locais	Genótipo	Mi	Mj	Cancro	Fitof	PB	CS	%Óleo	%Prot
LDA/PGA	257-32-9	MR	R	R	R	R	R	21,1	41,07
	257-63-7	MR	MR	R	R	R	R	21,3	40,67
LDA	257-355-19	MR	MR	R	R	R	R	22,04	41,46
	257-66-2	ÑG	MR	R	R	R	R	23,27	38,82
	257-324-20	R	MR	R	R	MR	R	20,11	41,17
	257-26-18	R	MR	R	R	R	R	23,26	39,43
	257-359-14	S	MR	R	R	R	R	21,67	37,64
PGA	257-217-16	S	MR	R	R	R	R	20,56	38,55
	257-323-13	S	MR	R	R	S	R	20,09	43,87
	257-196-8	S	MR	R	R	R	R	21,51	39,88
BRS 257		MR	MR						
<b>UEL 175</b>									
Locais	Genótipo	Mi	Mj	Cancro	Fitof	PB	CS	%Óleo	%Prot
LDA/PGA	175-101-13	S	ÑG	R	MR/R	R	R	23,08	38,14
	175-122-12	MR	S	R	R/R	S	R	19,88	39,68
	175-95-7	S	S	R	S	R	R	22,23	38,46
LDA	175-245-11	MR	S	R	R/R	MR	R	21,83	37,1
	175-225-19	S	S	R	R/R	R	R	21,89	38,19
	175-258-6	S	S	R	R	R	R	21,29	40,21
	175-339-15	R	S	R	R/R	MR	R	20,81	39,25
PGA	175-35-5	MR	S	R	R	S	R	22,03	38,64
	175-190-9	MR	S	R	S	MR	R	22,01	38,87
	175-274-18	S	S	R	R/R	MR	R	20,62	39,73
UEL 175		MR	S						

\*Mi: *Meloidogyne incognita*; Mj: *Meloidogyne javanica*; Cancro: Cancro da haste (*Diaporthe aspalathi*); PS: *Phytophthora sojae*; PB: Pústula bacteriana; CS: *Cercospora sojae*.

### APÊNDICE C

Teores de óleo e proteína; resistência aos nematóides *Meloidogyne incógnita* (Mi) e *Meloidogyne javanica* (Mj); e resistência às doenças Fitofora (Fitof); Pústula bacteriana (PB); e Cercospora (CS) em linhagens de soja selecionadas dentro das cultivares de soja UEL 175, BRS 257, BRS 284 e BRS 1001IPRO, em ultrabaixa densidade pelo modelo *Honeycomb Selection Designs*, comparadas à cultivar original, avaliadas sob competição na safra 2016/2017.

Identificação	Óleo	Prot	Ol+Prot	Mj	Mi	Fitof	PB	CS
<b>UEL 175</b>								
175-95-7	20,41	40,37	60,78	S	S	S	R	R
175-245-11	19,27	40,72	59,99	S	MR	R	MR	R
175-122-12	19,63	40,50	60,13	S	MR	R	S	R
175-101-13	20,25	39,06	59,31	S	S	R	R	R
175-339-15	19,52	39,62	59,14	S	R	MR	MR	R
UEL 175	20,41	39,10	59,51					
<b>BRS 257</b>								
257-63-7	18,92	42,48	61,40	MR	MR	R	R	R
257-32-9	20,72	40,26	60,97	R	MR	R	R	R
257-26-18	19,72	42,83	62,55	MR	R	R	R	R
257-355-19	20,04	41,73	61,77	MR	MR	R	R	R
257-324-20	19,18	42,26	61,44	MR	R	R	MR	R
BRS 257	20,32	41,10	61,42					
<b>BRS 284</b>								
BRS 284-223-2	22,10	38,39	60,49	S	S	S	MR	R
BRS 284-324-10	21,71	37,25	58,96	MR	S	S	R	MR
BRS 284-32-17	22,12	38,41	60,53	MR	S	R	R	MR
BRS 284-85-19	22,79	37,67	60,46	S	S	MR/R	R	MR
BRS 284-9-20	21,62	37,88	59,50	MR	S	R	R	MR
BRS 284	22,57	36,86	59,44					
<b>BRS 1001IPRO</b>								
BRS 1001-21-2	22,15	37,73	59,88	S	MR	R/R	R	R
BRS 1001-319-7	20,88	40,11	60,99	S	S	R/MR	R	R
BRS 1001-249-8	22,20	38,36	60,55	S	S	S	R	R
BRS 1001-165-16	20,90	39,50	60,40	R	S	S	R	R
BRS 1001-244-17	21,71	38,35	60,06	S	S	S	R	R
BRS 1001IPRO	21,31	38,22	59,54					

## APÊNDICE D

Seleção em ultrabaixa densidade, *Honeycomb Selection Designs*, na avaliação de plantas individuais de quatro cultivares de soja (BRS 284, BRS 1001IPRO, BRS 257 e UEL 175) utilizando um espaçamento de 1 m entre plantas, em Londrina/PR.



## APÊNDICE E

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina - CEP-UEL (CAAE: 79000717.7.0000.5231).

#### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Varição genética intracultivar em soja selecionada pelo modelo de seleção em ultra-baixa densidade (*Honeycomb Selection Designs*)

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo (a) para participar da pesquisa **Varição genética intracultivar em soja selecionada pelo modelo de seleção em ultra-baixa densidade (*Honeycomb Selection Designs*)**, a ser realizada na cozinha experimental da Embrapa Soja. O objetivo da pesquisa é "Avaliar a aceitação de bebidas de soja produzidas a partir de uma variedade (BRS 284) destinada à produção comercial de grãos e de duas variedades especiais (BRS 257 e UEL 175) que não contém uma substância que causa gosto ruim na soja (enzima lipoxigenase)". Sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte forma: A pesquisa será realizada em dois dias:

No primeiro dia você entrará em uma cabine individual onde serão oferecidas 4 (quatro) amostras de extrato aquoso de soja para serem provadas, avaliadas e comparadas com uma amostra de referência, identificada como "R". O teste do primeiro dia se dará em duas etapas onde, na primeira etapa, as 4 (quatro) amostras deverão ser identificadas como igual à referência ("preferida igual a R") ou diferente desta ("mais preferida que R" ou "menos preferida que R"). Na segunda etapa, as mesmas 4 (quatro) amostras deverão ser classificadas de acordo com a intensidade de preferência: se igual, intensidade é "nenhuma"; se diferente, a preferência deverá ser classificada como pequena, moderada, grande ou extrema.

No segundo dia, que será informado com antecedência, você entrará na cabine individual onde serão oferecidas 3 (três) amostras de extrato aquoso de soja; estas amostras deverão ser classificadas, individualmente de acordo com a preferência em: gostei muito, gostei, não gostei/nem desgostei, desgostei ou desgostei muito.

Esclarecemos que sua participação é totalmente voluntária, podendo você: recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento, sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Esclarecemos, também, que suas informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade.

Esclarecemos ainda, que você não pagará e nem será remunerado(a) por sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação.

O benefício esperado é o auxílio na avaliação de variedades de soja que serão posteriormente cultivadas e comercializadas, pois o sabor pode ser um fator importante para o sucesso de uma

\*Termo de Consentimento Livre Esclarecido apresentado, atendendo, conforme normas da Resolução 466/2012 de 12 de dezembro de 2012.

variedade. Apesar de serem pequenas as quantidades oferecidas das bebidas de soja nos testes, não havendo riscos de ingestão, estamos atentos ao fato de que **pessoas alérgicas à soja não deverão participar da pesquisa**. Mesmo sendo pouco provável que ocorram quaisquer desconfortos, caso ocorra algum, a pesquisadora se compromete a acompanhar a pessoa até a enfermaria local e aguardar o seu total restabelecimento.

Caso você tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá nos contatar:

Karla Bianca de Almeida Lopes, Rua Vital Ferreira Chagas, nº 600, Londrina, Paraná, celular 43 99930-8546, E-mail: karla.bianca.lopes@gmail.com, ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, situado junto ao LABESC – Laboratório Escola, no Campus Universitário, telefone 3371-5455, e-mail: cep268@uel.br.

Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas devidamente preenchida, assinada e entregue à você.

Londrina, \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_.

Karla Bianca de Almeida Lopes

RG: 10.192.560-9

\_\_\_\_\_, tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Assinatura (ou impressão dactiloscópica): \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_

\*Termo de Consentimento Livre Esclarecido apresentado, atendendo, conforme normas da Resolução 466/2012 de 12 de dezembro de 2012.