

JOSIE GOMES DE ALMEIDA BARROS

**CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DE QUALIDADE EM SOJA: INTERAÇÃO  
GENÓTIPO X AMBIENTE, ESTIMATIVA DE CORRELAÇÃO E MEDIDA DE  
DISSIMILARIDADE ENTRE AMBIENTES**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como  
parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Bioquímica  
Agrícola, para obtenção do título de  
*Magister Scientiae*

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2006

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

B277c  
2006

Barros, Josie Gomes de Almeida, 1980-

Características bioquímicas de qualidade em soja : interação  
genótipo x ambiente, estimativa de correlação e medida de  
similariedade entre ambientes / Josie Gomes de Almeida Barros.  
– Viçosa : UFV, 2006.  
xi, 57f. : il. ; 29cm.

Orientador: Maurilio Alves Moreira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 52-57.

1. Proteínas de Soja. 2. Soja - Semente. 3. Soja - Qualidade.  
4. Lipoxigenases. 5. Interação genótipo-ambiente. 6. Eletroforese.  
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 572.6

JOSIE GOMES DE ALMEIDA BARROS

**CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DE QUALIDADE EM SOJA: INTERAÇÃO  
GENÓTIPO X AMBIENTE, ESTIMATIVA DE CORRELAÇÃO E MEDIDA DE  
DISSIMILARIDADE ENTRE AMBIENTES**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como  
parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Bioquímica  
Agrícola, para obtenção do título de  
*Magister Scientiae*

APROVADA: 30 de agosto de 2006.

---

**Prof. Everaldo Gonçalves de Barros**  
(Co-orientador)

---

**Prof<sup>a</sup>. Maria Goreti de Almeida Oliveira**  
(Co-orientadora)

---

**Prof<sup>a</sup>. Valéria Monteze Guimarães**

---

**Prof. Sebastião Martins Filho**

---

**Prof. Maurilio Alves Moreira**  
(Orientador)

**Não que sejamos capazes, por nós, de pensar alguma coisa, como de nós mesmos; mas a nossa capacidade vem de Deus.**

(2 Cor. 3:5)

**A Deus;**

Aos meus pais, José e Eliêta;

Ao meu irmão Augusto;

Ao meu sobrinho Gustavo.

Por tudo que significam para mim

Dedico

## AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por mais essa vitória.

À Universidade Federal de Viçosa, especialmente ao programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola, pela oportunidade de realização desse trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO), pela infraestrutura adequada ao desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Maurilio Alves Moreira, pela orientação e sugestões no decorrer da pesquisa.

Ao professor Everaldo Gonçalves de Barros e à professora Maria Goreti de Almeida Oliveira pelo aconselhamento.

À professora Valéria Monteze Guimarães pelas sugestões, pela amizade e apoio.

Ao professor Sebastião Martins Filho, pela valiosa ajuda nas análises estatísticas.

Aos amigos dos laboratórios Proteína, Biomol e Análises Bioquímicas, pela amizade e pelo agradável convívio.

Ao Newton, pelo apoio na condução dos experimentos, pela amizade e pela paciência.

À estudante de iniciação científica Danielle, pela disposição em me ajudar nas análises bioquímicas e pela amizade.

Aos funcionários Naldo, João Paulo e Sandra Machado pela colaboração nas análises bioquímicas e pela amizade.

Aos amigos Arlindo, Inês, Pedro Ivo, Rita e Taís pela imensa colaboração e pela amizade.

Aos funcionários do BIOAGRO, em especial à Gláucia e ao Aloísio.

Às “Grazieles” (amigas de república) Andréia, Cristiane, Joseane e Paula, pelo agradável convívio, pelo apoio nos momentos difíceis, pelo grande laço de amizade e também por tornarem a cozinha o lugar mais movimentado da casa.

A todos que direta ou indiretamente ajudaram a tornar possível esse trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Que **Deus** abençoe a todos.

## **BIOGRAFIA**

JOSIE GOMES DE ALMEIDA BARROS, filha de José de Almeida Barros e Eliêta Gomes Pinto Barros, nasceu em Ubá, Minas Gerais, em 01 de maio de 1980.

Em março de 2000, ingressou no curso de Química da Universidade Federal de Viçosa, diplomando-se com os títulos de Licenciatura e Bacharelado em julho de 2004.

Em agosto de 2004, iniciou o curso de pós-graduação em Bioquímica Agrícola, em nível de Mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de dissertação em agosto de 2006.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO	viii
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Proteínas de reserva da soja	5
2.2. Lipoxigenases	7
2.3. Solubilidade protéica	10
2.4. Desenvolvimento de cultivares	11
2.5. Interação genótipo x ambiente	11
2.6. Correlação entre caracteres	12
2.7. Grau de similaridade entre ambientes	12
3. MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1. Material genético	14
3.2. Análises bioquímicas das proteínas	15
3.2.1. Determinação da concentração das proteínas de reserva por SDS- PAGE/densitometria	15
3.2.2. Determinação da concentração de proteína total pelo método de Kjeldahl	16
3.2.3. Determinação da atividade enzimática das lipoxigenases 1 e 3	18
3.2.4. Determinação da solubilidade protéica em KOH 0,2%	19
3.3. Análises estatísticas	19
3.3.1. Análise de variância	19
3.3.2. Análise de correlação fenotípica entre os caracteres	20
3.3.3. Interação genótipo x ambiente	21
3.3.4. Coeficiente de coincidência	21

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1. Análises de variância	22
4.2. Correlações fenotípicas entre os caracteres	33
4.3. Grau de dissimilaridade entre ambientes	37
5. CONCLUSÕES	50
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

## RESUMO

BARROS, Josie Gomes de Almeida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2006. **Características bioquímicas de qualidade em soja: interação genótipo x ambiente, estimativa de correlação e medida de similaridade entre ambientes.** Orientador: Maurilio Alves Moreira. Co-Orientadores: Maria Goreti de Almeida Oliveira e Everaldo Gonçalves de Barros

Por ser um grão de várias utilidades, tem-se observado demanda crescente sobre cultivares de soja com características de qualidade específicas. Portanto, para melhor atender às exigências do mercado, torna-se importante a caracterização de cultivares de soja quanto aos componentes químicos relativos à qualidade. Os objetivos deste trabalho foram avaliar a interação genótipo x ambiente das características de qualidade do grão de soja: atividade específica de lipoxigenases 1 (LOX 1) e 3 (LOX 3), concentração de proteína, concentração de proteína solúvel em KOH, concentrações das subunidades da proteína de reserva  $\beta$ -conglucina ( $\alpha'$ ,  $\alpha$  e  $\beta$ ) e concentrações das subunidades da proteína de reserva glicina (ácidas e básicas), além disso foram estimadas as correlações entre as características nos materiais genéticos e o grau de similaridade entre os ambientes de cultivo. Para isto, foram avaliados 25 genótipos de soja, cultivados nas estações experimentais da COOPADAP situadas nos municípios de Bom Jesus de Goiás-GO, Paracatu-MG, São Gotardo-MG e Rio Paranaíba-MG, no ano agrícola 2005/2006. Os experimentos foram executados em blocos casualizados, com três repetições. Foram determinados os conteúdos das subunidades das proteínas de reserva glicina e  $\beta$ -conglucina por SDS-PAGE/densitometria, conteúdo de proteína pelo método de Kjeldahl, atividade específica das lipoxigenases 1 e 3 e solubilidade protéica em KOH 0,2%. Os coeficientes de correlação fenotípicos entre os caracteres avaliados e o grau de similaridade entre ambientes foram estimados utilizando-se o método de correlação de Pearson. Verificou-se interação genótipo x ambiente para concentração de proteína, concentração de proteína solúvel em KOH e concentração da subunidade  $\alpha'$  ( $\beta$ -conglucina). Verificou-se efeitos de genótipo e de ambiente para atividade específica de LOX 1 e 3, concentração da subunidade  $\beta$  ( $\beta$ -conglucina) e subunidades ácidas e básicas (glicina). Os estudos de comparação entre médias para verificar o efeito de cada genótipo no conjunto de ambientes permitiram concluir que os genótipos Cs02020, Cs02054 e Cs02529 se destacaram em relação aos demais

apresentando um desempenho superior para atividade específica de LOX 1 e 3, concentração da subunidade  $\beta$  ( $\beta$ -conglucina) e das subunidades básicas (glicina) e que para as concentrações da subunidade  $\alpha$  ( $\beta$ -conglucina) e das subunidades acídicas (glicina) não foram observadas médias estatisticamente diferentes entre si. Os estudos de comparação entre médias para verificar o efeito de cada ambiente no conjunto de genótipos apontaram o município de São Gotardo-MG como o que apresentou as maiores médias para as atividades específicas de LOX 1 e 3 e concentração das subunidades acídicas, básicas,  $\alpha$  e  $\beta$ . Os estudos da interação genótipo x ambiente permitiram concluir que os genótipos Cs02884, Luziania, Msoy8001, Cs02529 e Vencedora se destacaram em relação aos demais apresentando desempenho superior para concentração de proteína, concentração de proteína solúvel em KOH e concentração da subunidade  $\alpha'$  em todos os ambientes avaliados. Observou-se correlação entre as atividades específicas de LOX 1 e 3. Verificou-se que os ambientes que apresentaram maior grau de similaridade para atividade específica de LOX 1 foram Paracatu-MG e Rio Paranaíba-MG e de LOX 3 foram Bom Jesus de Goiás-GO e São Gotardo-MG; para concentração de proteína e para concentração de proteína solúvel em KOH foram Paracatu-MG e São Gotardo-MG; para concentração da subunidade  $\beta$  foram Bom Jesus de Goiás-GO e Paracatu-MG e não foram encontradas correlações entre os ambientes para as concentrações das subunidades  $\alpha'$ ,  $\alpha$  e básicas. Verificou-se que os genótipos que estiveram mais freqüentes entre as maiores médias para pares de características foram Cs02936 e Luziania para atividades específicas de LOX 1 e 3 e Cs9877 para concentração de proteína solúvel em KOH e subunidades  $\alpha'$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ , acídicas e básicas.

## ABSTRACT

BARROS, Josie Gomes de Almeida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August 2006. **Biochemical characteristics of soybean quality: genotype x environment interaction, correlation estimate and similarity measure among environments.** Adviser: Maurilio Alves Moreira. Co-Adviser: Maria Goreti de Almeida Oliveira and Everaldo Gonçalves de Barros

The multipurpose feature of soybean grain has generated a growing demand for cultivars with specific traits. To be able to meet market demands efficiently is important to characterize soybean cultivars in relation to chemical components concerning quality. The objectives of this work were to evaluate genotype x environment interaction of the soybean traits: lipoxygenases 1 (LOX 1) and 3 (LOX 3) specific activities, total protein, KOH-soluble protein, storage proteins  $\beta$ -conglycinin subunits ( $\alpha'$ ,  $\alpha$  and  $\beta$ ) and glycinin subunits (acidic and basic) concentrations. In addition, the correlations between these traits in different cultivars and the degree of similarity among environments were estimated. Twenty-five soybean cultivars were evaluated at the COOPADAP experimental stations located in the districts of Bom Jesus de Goiás-GO, Paracatu-MG, São Gotardo-MG and Rio Paranaíba-MG, in the agricultural year 2005/2006. The experiments were set in randomized blocks, with three repetitions. Glycinin and  $\beta$ -conglycinin storage proteins subunits contents were determined by SDS-PAGE/densitometry, total protein content by the Kjeldahl method, and soluble protein in 0.2% KOH. The coefficients of phenotypic correlation between the evaluated traits and the similarity degree among environments were estimated using Pearson's correlation. Cultivar x environment interactions were found for total protein, KOH-soluble protein and  $\alpha'$  subunit ( $\beta$ -conglycinin) concentrations. Effects of cultivar and environment were found for LOX 1 and 3 specific activities,  $\beta$  subunit ( $\beta$ -conglycinin), acidic and basic subunits (glycinin) concentrations. Comparison among means to verify the effect of each cultivar in the different environments showed that genotypes Cs02020, Cs02054 and Cs02529 had superior performance for LOX 1 and 3 specific activities,  $\beta$  subunit ( $\beta$ -conglycinin) and basic subunits (glycinin) concentrations, whereas the means of  $\alpha$  subunit ( $\beta$ -conglycinin) and acidic subunits (glycinin) contents showed no significant difference among genotypes. The comparison among means to verify the effect of each environment upon genotypes showed that São Gotardo-MG had the largest means for

LOX 1 and 3 specific activities, acidic, basic,  $\alpha$  and  $\beta$  subunits concentrations. Genotype x environment interaction studies showed that Cs02884, Luziania, Msoy8001, Cs02529 and Vencedora cultivars had superior performance for total protein, KOH-soluble protein and  $\alpha'$  subunit content in all tested environments. There was correlation between LOX 1 and 3 specific activities. The environments with higher similarity degree for LOX 1 specific activity were Paracatu-MG and Rio Paranaíba-MG, for LOX 3, Bom Jesus de Goiás-GO and São Gotardo-MG; for total protein and KOH-soluble protein Paracatu-MG and São Gotardo-MG; for  $\beta$  subunit content Bom Jesus de Goiás-GO and Paracatu-MG. No correlations between environments were found for  $\alpha'$ ,  $\alpha$  and basic subunits contents. The genotypes appearing more frequently among the largest means for pairs of traits were Cs02936 and Luziania for LOX 1 and 3 specific activities and Cs9877 for KOH-soluble protein and  $\alpha'$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ , acidic and basic subunits contents.

## 1. INTRODUÇÃO

A soja é uma leguminosa cultivada pelos chineses há cerca de cinco mil anos. Há três mil anos se espalhou pela Ásia, onde começou a ser utilizada como alimento. Foi no início do século XX que passou a ser cultivada comercialmente nos Estados Unidos. A partir daí, houve um rápido crescimento na produção, com o desenvolvimento das primeiras cultivares comerciais.

No Brasil, o grão chegou com os primeiros imigrantes japoneses em 1908, mas foi introduzido oficialmente no Rio Grande do Sul em 1914. Porém, a expansão aconteceu nos anos 70, com o interesse crescente da indústria de óleo e a demanda do mercado internacional (EMBRAPA SOJA, 2006).

Até 1975, a maioria da produção brasileira era realizada com cultivares e técnicas importadas dos Estados Unidos, onde as condições climáticas são bem diferentes das brasileiras. Assim, só produzia em escala comercial, nos estados do Sul, onde as cultivares americanas encontrava condições semelhantes à de seu país de origem (TEIXEIRA, 2003). A partir daí, pesquisadores desenvolveram inúmeras variedades adaptadas ao cultivo em diferentes latitudes, solo e condições climáticas, o que tem permitido o seu plantio em todas as regiões brasileiras.

O Brasil é responsável por cerca de 30% da produção mundial, com a safra de 2006 estimada em 57 milhões de toneladas. O País é o segundo maior produtor e exportador mundial de soja em grão, farelo e óleo de soja. O Complexo Soja, que reúne a cadeia produtiva do grão, farelo e óleo, é um dos principais itens da Balança Comercial Brasileira e exportou cerca de US\$9,5 bilhões em 2005, colocando o país na liderança mundial nas exportações do setor em valor (ABIOVE, 2006).

No Brasil, as principais áreas produtoras estão na região Sul, Sudeste e Centro-Oeste, principalmente nos estados do Mato Grosso, Paraná, Rio Grande do Sul e Goiás.

Tanto no Brasil quanto no restante do mundo a soja tem sido processada por indústrias de extração de óleo para a obtenção de óleo e farelo, que por sua vez são matérias-primas para outros segmentos industriais. O óleo é utilizado para cocção, frituras, produção de gorduras hidrogenadas, margarinas, maioneses, entre outros (MOREIRA et al., 2001). O farelo é usado, principalmente, nas indústrias de produção de ração. Apenas uma pequena porcentagem é processada e usada como ingredientes na alimentação humana na forma de farinhas desengorduradas, flocos, concentrados e

isolados, que por sua vez também servem como matéria-prima na produção de texturizados para embutidos, dentre outros (MONTEIRO et al., 2003).

Cerca de 40% do peso seco do grão refere-se ao conteúdo de proteínas de reserva e 20% refere-se ao conteúdo de óleo. De início, a soja foi melhorada para se ter um aumento no rendimento e também no conteúdo de óleo (YAKLICH, 2001). Mais recentemente, o interesse por variedades mais produtivas e com altas concentrações de proteína tem sido crescente. Entretanto, existem obstáculos que têm dificultado o desenvolvimento de sementes com alta concentração de proteína para uso comercial, que é o fato de haver correlação negativa entre a concentração de proteína e a concentração de óleo e entre a concentração de proteína e rendimento (BURTON, 1987).

O grão contém várias proteínas, porém, a maioria presente em pequenas quantidades. As proteínas em maiores quantidades são: glicinina,  $\beta$ -conglucina, lipoxigenases, inibidor de tripsina Kunitz (KTI), inibidores de protease de baixo peso molecular (sendo o inibidor Bowman-Birk o mais estudado), a lectina e a urease, sendo que a glicinina e a  $\beta$ -conglucina perfazem um total de, aproximadamente, 70% das proteínas da semente (HILL e BREIDENBACH, 1974).

Um dos fatores responsáveis, em grande parte, pela restrição ao consumo da soja nos países ocidentais é o seu sabor característico conhecido como *beany flavor* (RACKIS et al., 1979). Este sabor tem sido associado a diversos compostos que são produtos finais de uma série de reações catalisadas pelas enzimas lipoxigenases, que atuam sobre ácidos graxos polinsaturados, principalmente sobre o ácido linoléico (BARROS et al., 1984). Estas enzimas constituem cerca de 1% do total de proteínas presentes no grão (AXELROD et al., 1981).

O farelo, que é obtido a partir da moagem do grão para extração do óleo, representa um dos ingredientes de maior importância utilizados em ração animal. Por se tratar de um subproduto obtido após a extração do óleo, o farelo passa por uma série de processamentos que podem afetar a sua qualidade nutricional.

Para monitorar a qualidade do processamento do farelo, existem algumas análises específicas, como, por exemplo, a de proteína solúvel, que determinam a qualidade e disponibilidade das proteínas, que podem ser afetados pelo processamento térmico inadequado, influenciando diretamente em seu valor nutricional. Portanto, o monitoramento através de análises bromatológicas, tem o objetivo de evitar que farelos

de baixa qualidade sejam utilizados nas rações, evitando-se com isso perdas no desempenho do animal e nos resultados econômicos da produção (RUNHO, 2006).

Por ser um grão de várias utilidades, tem-se observado uma crescente demanda por informações sobre quais cultivares apresentam as características de qualidade que determinado mercado exige. Por esse motivo torna-se interessante, então, a caracterização das cultivares quanto aos componentes químicos relativos à qualidade para melhor atender às exigências de cada mercado.

O presente trabalho teve como objetivos: (1) Estudar as características de qualidade do grão de soja quanto à atividade das lipoxigenases 1 (LOX 1) e 3 (LOX3), concentração de proteína total, concentração de proteína solúvel em KOH e concentração das subunidades das proteínas de reserva  $\beta$ -conglucina ( $\alpha'$ ,  $\alpha$  e  $\beta$ ) e glicinina (ácidas e básicas); (2) Avaliar a interação genótipo x ambiente para as características estudadas; (3) Estimar as correlações entre as características nos materiais genéticos; (4) Avaliar o grau de similaridade entre os ambientes.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma leguminosa originária da China, região de clima temperado, mas apresenta boa adaptação às condições de climas subtropical e tropical encontradas em várias regiões do Brasil, devido principalmente aos trabalhos de melhoramento genético (GONDIM, 2001). Esta leguminosa tem sido a principal fonte de proteína na dieta de milhões de pessoas na Ásia, o que não pode ser dito para o resto do mundo, onde o seu consumo direto e de derivados é ainda muito pequeno, quando comparado ao uso do óleo.

Com o aumento da população, cresce a necessidade do incremento da produção de proteína de alto valor biológico. Como consequência, há um grande incentivo na utilização de proteína vegetal de baixo custo. A soja e seus produtos são fontes baratas de proteína, minerais, fósforo e vitaminas, além de apresentar um papel importante na saúde humana. Como resultado disso, a indústria alimentícia vem desenvolvendo vários tipos de produtos à base de soja tais como farinhas, isolados, concentrados e proteínas texturizadas (LIU, 1997).

A maioria das cultivares apresenta de 30 a 45% de proteínas, de 15 a 25% de óleo, de 20 a 35% de carboidratos e cerca de 5% de cinzas (MOREIRA, 1999).

Geralmente tem-se mantido níveis mais baixos de concentração de proteína (em torno de 40%) do que potencialmente podem ser conseguidos (em torno de 50%) pelo fato de proteína e óleo serem negativamente correlacionados, como também o são proteína e rendimento e que durante décadas procurou-se apenas selecionar variedades de alto conteúdo de óleo e alta produtividade. No geral, as cultivares apresenta 20% de óleo.

Atualmente, o farelo é o principal subproduto das indústrias de esmagamento no Brasil, sendo que a maior parte dele destina-se à exportação (em torno de 65%). Sua concentração de proteína influencia no preço, assim, torna-se necessário o desenvolvimento de variedades produtivas e com alta concentração de proteína (PIOVESAN, 2000), sendo o farelo classificado nas categorias “HyPro” (>48%), “Normal” (46%) e “LowPro” (<43,5%) (MORAES, 2003).

Além das proteínas de reserva, o grão possui outras proteínas, tais como lipoxigenases, inibidores de proteases (Kunitz e Bowman-Birk), lectinas e ureases. Estas proteínas representam menos de 8% da proteína total da soja (NIELSEN, 1996).

## 2.1. Proteínas de reserva da soja

Dentre as espécies vegetais utilizadas comercialmente, a semente de soja é a que tem maior conteúdo de proteína. Cerca de 40% da matéria seca da semente de soja é constituída de proteína e 20% de óleo.

Historicamente, esta tem sido melhorada geneticamente com o objetivo de aumentar tanto a produtividade quanto a concentração de óleo no grão. Apenas recentemente alguns programas de melhoramento têm dado ênfase no desenvolvimento de variedades mais produtivas contendo altas concentrações de proteínas (YAKLICH, 2001).

A restrição que existe quanto ao consumo da fração protéica da soja e de seus derivados pela população está associada, entre outros fatores, à baixa qualidade nutricional do grão utilizado no processamento industrial. No melhoramento do grão de soja a concentração e a qualidade da proteína devem ser consideradas, sendo que a qualidade protéica se refere à concentração de aminoácidos sulfurados e também às propriedades funcionais da proteína (WILCOX e SHIBLES, 2001).

As proteínas de reserva constituem um importante grupo de proteínas presentes nas plantas cuja função é prover nitrogênio e aminoácidos para o seu desenvolvimento (MOREIRA et al., 1981). As proteínas de reserva se localizam no cotilédone, em partículas denominadas corpos protéicos (KOSHIYAMA, 1987).

Poucas proteínas principais são armazenadas na semente, duas proteínas de reserva,  $\beta$ -conglucina e glicina, constituem cerca de 70% das proteínas de reserva em soja. Geralmente a glicina é a mais abundante (COATES et al., 1985; SGARBIERI, 1996; YAKLICH, 2001).

Existe um sistema de classificação geral de proteínas vegetais, baseado na solubilidade destas em diversos solventes (SMITH e GRIERSON, 1982), que estabelece quatro tipos de proteínas: albumina, globulina, prolamina e glutenina.

A maior parte da proteína da soja é constituída pelas proteínas de reserva que pertencem ao grupo das globulinas. Proteínas do tipo globulina são mais complexas, sua massa molecular varia de 18 a 360 kDa e são solúveis em soluções salinas (0,5 a 1,0 M de NaCl). A distribuição de duas frações diferentes dentro das globulinas foi feita com base no coeficiente de sedimentação de 7S e 11S, as quais foram denominadas,

respectivamente,  $\beta$ -conglucina e glicina (HILL e BREIDENBACH, 1974). Diferentes variedades de soja contêm diferentes relações das proteínas 7S e 11S (Wolf et al., 1961).

As globulinas contêm altos níveis dos aminoácidos glutamina, asparagina e arginina, mas, contêm baixas concentrações dos aminoácidos sulfurados metionina e cisteína (SMITH e GRIERSON, 1982). Análises de linhagens com variações na concentração da proteína 7S levaram à conclusão de que uma diminuição na síntese da proteína 7S pode ser compensada por um aumento na síntese da proteína 11S, que possui um maior conteúdo de metionina, mantendo assim a concentração de proteína total não alterada. Conseqüentemente, isso aumentaria o conteúdo de aminoácidos sulfurados da proteína da soja (KITAMURA et al., 1981; OGAWA et al., 1989).

Estudando a composição das proteínas de reserva glicina e  $\beta$ -conglucina em linhagens com alta concentração de proteínas, Yaklich (2001) verificou que o aumento da concentração de proteína acompanhava o aumento da concentração das subunidades  $\alpha'$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ , componentes da  $\beta$ -conglucina. Moraes et. al. (2006) apresentaram resultados que divergem destes, observando que o aumento da concentração de proteína era acompanhado, principalmente, pelo aumento na concentração das subunidades componentes da proteína glicina.

A proteína glicina representa cerca de 40% do total de globulinas na semente (LIU, 1997). A glicina é um hexâmero com massa molecular entre 320-375 kDa (YAKLICH, 2001), é composta por seis polipeptídios de caráter ácido (A1a, A1b, A2, A3, A4 e A5) e cinco de caráter básico (B1a, B1b, B2, B3 e B4) que se associam de modo específico, através de ligações bissulfídicas, entre um polipeptídio ácido e um básico, formando as subunidades A1aB2, A1bB1b, A2B1a, A3B4 e A5A4B3, que recebem o nome de G1, G2, G3, G4 e G5, respectivamente (MOREIRA et al., 1979, 1981). O polipeptídio A4 está associado ao B3 por meio de ligações não covalentes (STASWICK et al., 1981). Os aminoácidos sulfurados não são distribuídos igualmente entre as várias subunidades da glicina (MOREIRA et al., 1979, 1981).

A proteína  $\beta$ -conglucina é um trímero com massa molecular entre 150 e 175 kDa. É formada por várias combinações de três subunidades polipeptídicas homólogas  $\alpha'$  (76 kDa),  $\alpha$  (72 kDa) e  $\beta$  (53 kDa) (YAKLICH, 2001). As subunidades  $\alpha'$  e  $\alpha$  possuem, respectivamente, 3 e 2 resíduos de metionina e a subunidade  $\beta$  não possui esse aminoácido (COATES et al., 1985 e HIRANO et al., 1987).

A concentração destas duas proteínas pode variar nas diversas variedades de soja, dependendo da constituição genética da semente e do ambiente onde elas são cultivadas. Uma vez que glicinina (11S) contém mais aminoácidos sulfurados, uma maior razão 11S:7S leva a mudanças benéficas na qualidade nutricional da soja.

Pesquisas envolvendo a manipulação genética dos níveis dessas duas proteínas estão sendo empregadas com o intuito de aumentar os níveis de aminoácidos essenciais tanto para consumo humano quanto para formulação de ração para consumo animal (KWANYUEN et al., 1997).

## **2.2. Lipoxigenases**

Um dos fatores que afetam o consumo de soja e derivados nos países ocidentais é, principalmente, o seu sabor característico, denominado “beany flavor” (RACKIS et al., 1979), ocasionado devido à ação das enzimas lipoxigenases, e pela presença de inibidores de proteases, que constituem um dos principais fatores antinutricionais da soja (ANDERSON-HAFERMANN et al., 1992).

No reino vegetal basicamente operam quatro sistemas enzimáticos para a modificação oxidativa dos ácidos graxos:  $\alpha$ -oxidação,  $\beta$ -oxidação,  $\omega$ -oxidação e o sistema das lipoxigenases. No geral pode-se dizer que os três primeiros sistemas carecem de certa especificidade em relação ao substrato (SANZ et al., 1992), já no sistema das lipoxigenases isso não ocorre.

Lipoxigenases (linoleato: oxigênio oxidoreductase, E.C. 1.13.11.12), são dioxigenases que catalisam a adição de oxigênio molecular a moléculas de ácidos graxos polinsaturados contendo o sistema cis,cis-1,4-pentadieno (AXELROAD et al., 1981). Este sistema ocorre, geralmente, nos ácidos graxos di- e tri-insaturados, como os ácidos linoléico (C18:2) e linolênico (C18:3), os quais são os principais substratos para lipoxigenases em plantas superiores. O ácido linolênico é o mais abundante na maioria dos tecidos de plantas, compreendendo mais de 80% do grupo acil dos lipídios de membrana dos cloroplastos. O ácido linoléico é encontrado em maior quantidade em sementes e embriões (HILDEBRAND et al., 1988).

Na semente de soja, é estimado que o ácido linolênico represente de 7 a 9% dos ácidos graxos, e o ácido linoléico 57% (KITAMURA et al., 1984).

A semente de soja é rica em lipoxigenases sendo o material biológico mais utilizado para estudos dessas enzimas. Lipoxigenases estão presentes em semente de soja na forma de três isoenzimas: LOX 1, 2 e 3 (KITAMURA et al., 1983; VIEIRA et al., 2002).

Em estudos sobre estrutura e comparação das lipoxigenases, SKRYPCZAK et al. (1997) afirmaram que estas enzimas possuem diferenças de catálise, embora compartilhem 72% de identidade seqüencial.

As três isoenzimas são proteínas globulares, cada constituída de um único polipeptídeo (AXELROD et al., 1981), de massa molecular em torno de 100 kDa (KLAJN, 1991; LIU, 1997). LOX 1 apresenta 838 resíduos de aminoácidos com massa molecular de 94.038 Da; LOX 2, 865 resíduos com massa molecular de 97.035 Da; e LOX 3, 859 resíduos com massa molecular de 96.541 Da (SHIBATA et al., 1987).

As três lipoxigenases de semente de soja podem ser divididas em dois tipos. Tipo I inclui a LOX 1, possui pH de ação alcalino, sendo seu pH ótimo em torno de 9,5. A Tipo II inclui LOX 2 e 3, possui pH de ação ácido, sendo seu pH ótimo entre 5,8 e 6,2 (VIEIRA et al., 2002; KUMAR, 2006).

As lipoxigenases diferem em muitos aspectos bioquímicos tais como especificidade ao substrato, pH ótimo de ação, ponto isoelétrico, produtos primários e secundários formados, estabilidade e capacidade de cooxidação de pigmentos (KLAJN, 1991).

Quanto à especificidade ao substrato, LOX 1 é mais ativa sobre o ácido linoléico, que é o substrato mais usado pelas três isozimas (AXELROD et al., 1981). Já LOX 2 é mais ativa sobre o ácido araquidônico (C<sub>20:4</sub>) e tanto LOX 2 quanto LOX 3 mostram boa atividade com metil linoleato (MACK et al., 1987).

Quanto ao pH ótimo de ação, utilizando-se o ácido linoléico como substrato, para LOX 1 é em torno de 9,0; LOX 2 em torno 7,0 e LOX 3 possui faixa ampla de 4,5 a 9,0 (HILDEBRAND e HYMOWITZ, 1981 e HILDEBRAND e KITO, 1984).

Quanto ao ponto isoelétrico, as lipoxigenases 1, 2 e 3 apresentam, respectivamente, valores de pI iguais a 5,65; 6,25 e 6,15 (PETERMAN & SIEDOW, 1985). Quanto à estabilidade térmica, LOX 1 é mais estável ao aquecimento que LOX 2 e 3 (LIU, 1997).

Quanto aos produtos primários, são eles os hidroperóxidos de ácidos graxos. A hidroperoxidação do ácido linoléico tem como produto tanto 9-hidroperóxido quanto 13-

hidroperóxido em proporções variadas. A hidroxidação catalisada pela LOX 1 dá como produto quase que exclusivamente o 13-hidroperóxido na proporção de 95:5; LOX 2 leva à formação de 13- e 9-hidroperóxido em igual proporção e LOX 3 produz os dois hidroperóxidos, respectivamente, na proporção de 35:65 (AXELROD et al., 1981; LIU, 1997; VIEIRA et al., 2002).

Quanto aos produtos secundários, suas formações envolvem a decomposição dos hidroperóxidos em compostos carbonílicos de cadeia curta tais como ácidos, aldeídos e cetonas. Pigmentos descoloridos também podem ser considerados produtos secundários da ação das LOXs (KLAJN, 1991).

Quanto à capacidade de cooxidação de pigmentos, vários pesquisadores têm apresentado evidências de que as lipoxigenases do Tipo II (LOX 2 e LOX 3) da soja são responsáveis pela cooxidação do caroteno e de que a lipoxigenase do Tipo I (LOX 1) exibe pequena atividade de cooxidação de pigmentos carotenóides; e que LOX3 e, em menor intensidade, LOX2 são responsáveis pela cooxidação e, conseqüentemente, pelo branqueamento da farinha (KLAJN et al., 1993).

Na soja, as LOXs constituem 1% do total de proteínas presentes no grão (AXELROD et al., 1981). A eliminação genética das lipoxigenases é considerada a forma mais eficiente de reduzir o “beany flavor”, porque o tratamento térmico utilizado para inativação dessas isoenzimas, apesar de ter eficiência razoável, prejudica sensivelmente as propriedades funcionais das proteínas (KINSELLA, 1979).

Para muitas sementes, como a soja, que contém altos níveis de lipoxigenase e ácido linoléico, a produção de hexanal é significativa. Esta substância, produzida durante a ação das lipoxigenases, mesmo quando presente em concentrações muito baixas (ordem de 5 ppb), possui um odor indesejável para a produção de alimentos (HILDEBRAND, 1989), representando um sério problema.

Como uma alternativa para melhorar as características organolépticas dos produtos derivados de soja, aumentando assim sua aceitação pelo consumidor, programas de melhoramento tais como o Programa de Melhoramento de Soja para Consumo Humano, em desenvolvimento no Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária da Universidade Federal de Viçosa (BIOAGRO-UFV) têm desenvolvido cultivares que apresentam ausência de LOX, por meio de retrocruzamentos.

### 2.3. Solubilidade protéica

A solubilidade protéica em álcali (solução 0,2% de KOH) avalia a disponibilidade das proteínas dos subprodutos da soja (ARABA & DALE, 1989; 1990).

Devido à presença de fatores antinutricionais, que atuam negativamente sobre o desempenho animal, a soja *in natura* não deve ser utilizada na alimentação de monogástricos sem que seja adequadamente processada.

O processamento térmico elimina fatores antinutricionais termolábeis, entretanto, pode provocar a desnaturação protéica pelo excesso de calor levando à perda da função biológica. Embora em algum aspecto essa desnaturação possa ser desejável, como no caso de inativação de enzimas deletérias, processamento térmico inadequado pode representar problemas do ponto de vista nutricional (MENDES et al., 2004; RUNHO, 2006).

Proteína solúvel é aquela disponível para a absorção, sendo assim, quanto maior sua quantidade, melhor a disponibilidade da proteína e dos aminoácidos para o animal. O grão de soja pode apresentar até 100% de sua proteína total solúvel em KOH. Contudo, observa-se que à medida que o grão de soja é submetido ao processamento térmico, com o objetivo de destruir os fatores antinutricionais presentes, verifica-se uma queda na solubilidade da proteína e conseqüentemente uma queda na disponibilidade da proteína e dos aminoácidos para os animais (RUNHO, 2006).

Na classificação do farelo de soja em relação à quantidade de proteína solúvel encontrada, é considerado que o farelo que apresenta proteína solúvel acima de 85% passou por um processamento térmico ineficiente (ARABA & DALE, 1989; 1990; VELOSO, 2005). Proteína solúvel entre 70-85% indica um processamento térmico ideal (MENDES et al., 2004). Valores abaixo de 70% indicam processamento térmico excessivo (ARABA & DALE, 1989, 1990; MENDES et al., 2004), indicando a ocorrência de uma desnaturação significativa na proteína, afetando diretamente sua disponibilidade (RUNHO, 2006).

## **2.4. Desenvolvimento de cultivares**

O desenvolvimento de programas de melhoramento de soja no Brasil possibilitou o lançamento de novas cultivares, contribuindo para a grande expansão do cultivo da soja em diversas regiões do país (SEDIYAMA et al., 1999).

A escolha da cultivar é um dos principais fatores a se considerar na implantação de uma cultura de soja, com alta probabilidade de sucesso. É importante lembrar que existem diferenças no desempenho entre as cultivares, conforme a região de cultivo (AZEVEDO, 2004).

A cultura da soja é influenciada pelas condições climáticas durante seu ciclo, entre elas o fotoperíodo, a temperatura e as precipitações pluviais. Com isso o comportamento de variedades de soja varia tanto em relação à época como ao local de plantio.

Antes da introdução de um novo cultivar no mercado, são realizados vários ensaios a fim de garantir maior confiabilidade na sua indicação. Algumas cultivares com rendimento médio superior são indicados, mas podem não ser eficientes em condições diferentes das que foram conduzidas nos ensaios (VIEIRA, 2003).

## **2.5. Interação genótipo x ambiente**

A ação conjunta do genótipo, do ambiente e da interação entre eles resulta na variação fenotípica. A interação genótipo x ambiente reflete as diferenças na sensibilidade dos genótipos às variações ambientais, resultando em mudanças no desempenho relativo dos genótipos (AZEVEDO, 2004).

A avaliação de genótipos em diferentes condições ambientais representa a mais trabalhosa e mais cara de todas as fases de um programa de melhoramento de plantas, portanto, um bom conhecimento da interação genótipo x ambiente pode contribuir para a seleção e indicação de cultivares (CHAVES, 2001).

São denominados de ambiente as condições edafoclimáticas associadas a práticas culturais e outras variáveis que afetam o desenvolvimento das plantas (BORÉM, 2001).

Segundo EBERHART e RUSSELL (1966), com a finalidade de minimizar o efeito da interação genótipo x ambiente, a área a ser usada para a obtenção de novos

genótipos deve ser estratificada em sub-regiões mais homogêneas, para controlar alterações envolvendo gradiente de temperatura, tipos de solo e distribuição das precipitações pluviométricas. Segundo TAI (1971) a eficiência desse procedimento é baixa, já que ocorrem ainda interações significativas de genótipo x ambiente.

Na maioria das avaliações da interação genótipo x ambiente, os genótipos são submetidos a diferentes condições ambientais, sendo, posteriormente, efetuada uma análise de variância conjunta e verificada a ocorrência de significância na interação (MAURO, 1991).

## **2.6. Correlação entre caracteres**

Nos programas de melhoramento, além de se visar o aprimoramento de um caráter principal, geralmente, também se busca manter ou melhorar a expressão de outros caracteres.

A estimativa das correlações entre caracteres é um aspecto de grande valor para o melhorista, pois permite conhecer as mudanças que ocorrem em um determinado caráter em função da seleção praticada em outro caráter correlacionado. Isso é de grande importância principalmente se a seleção em um dos caracteres apresenta dificuldades, por exemplo, de medição ou de identificação (CRUZ & REGAZZI, 2001).

A correlação é a medida do grau ou da intensidade de associação entre duas variáveis, podendo ser positiva (quando ocorre acréscimo nas duas variáveis) ou negativa (quando ocorre acréscimo de uma e decréscimo da outra) (STEEL & TORRIE, 1980).

A correlação que pode ser diretamente mensurada a partir de medidas de dois caracteres, em certo número de indivíduos, é a fenotípica. Esta correlação tem duas causas principais, uma genética e outra ambiental (FALCONER, 1987).

## **2.7. Grau de similaridade entre ambientes**

Uma das maneiras de reduzir a interação genótipo x ambiente pode ser utilizando-se cultivares específicas para cada ambiente ou estratificando-se a região de condução do experimento em sub-regiões com características ambientais semelhantes (AZEVEDO, 2004).

Quando se dispõe de uma rede de ambientes para as avaliações das cultivares, tornam-se fundamental identificar se há, entre os ambientes, padrões de similaridade entre as respostas das características avaliadas. O procedimento citado possibilita tomar decisões com relação à redução do número de ambientes, quando existirem, por exemplo, problemas de escassez de recursos (CRUZ e REGAZZI, 1997).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Material genético

Foram avaliados 25 genótipos de soja, fornecidos pela empresa COOPADAP (Cooperativa Agropecuária do Alto Paranaíba), plantados em três locais em Minas Gerais: Paracatu, São Gotardo e Rio Paranaíba e um em Goiás: Bom Jesus de Goiás, no ano agrícola 2004/2005 (Tabela 1).

Tabela 1 - Lista dos 25 genótipos de soja fornecidos pela empresa COOPADAP (Cooperativa Agropecuária do Alto Paranaíba) plantados em três locais em Minas Gerais (Paracatu, São Gotardo e Rio Paranaíba) e um em Goiás (Bom Jesus de Goiás) no ano agrícola 2004/2005

n°	Genótipo
1	Cs02133
2	Cs02449
3	Cs02544
4	Cs02564
5	Cs02712
6	Cs02731
7	Cs02760
8	Cs02884
9	Cs02936
10	Cs01736
11	Luziania
12	Monarca
13	Msoy8001
14	Splendor
15	Carrera
16	Cs01074
17	Cs02020
18	Cs02054
19	Cs02302
20	Cs02353
21	Cs020521
22	Cs02529
23	Cs9877
24	Emgopa-316
25	Vencedora

A altitude e a latitude dos municípios são, respectivamente, 550 m e 17°12'12" para Paracatu, 1055 m e 19°18'36" para São Gotardo, 1067 m e 19°12'40" para Rio Paranaíba e 619 m e 18°12'42" para Bom Jesus de Goiás de Goiás.

O experimento foi conduzido com os 25 genótipos, no delineamento em blocos casualizados com três repetições. Cada repetição constituiu de quatro fileiras de 5 m de comprimento, plantadas em espaçamento de 0,5 m. A área útil da parcela foi constituída apenas pelas plantas presentes nos 4 m internos das duas fileiras centrais.

## 3.2. Análises bioquímicas das proteínas

### 3.2.1. Determinação da concentração das proteínas de reserva por SDS-PAGE/densitometria

As proteínas de reserva glicinina (subunidades acídicas e básicas) e  $\beta$ -conglucina (subunidades  $\alpha'$ ,  $\alpha$  e  $\beta$ ) foram separadas por eletroforese descontínua em gel de poliacrilamida em condições desnaturantes (SDS-PAGE), de acordo com a metodologia proposta por LAEMMLI (1970) e quantificadas por densitometria.

Pesou-se cerca de 10 mg de semente de soja moída, que foram colocadas em tubos Eppendorfs de 1,5 mL e adicionados 1,0 mL de tampão de extração (tampão fosfato de sódio 0,05 M; pH 7,6; NaCl 0,4 M;  $\beta$ -mercaptoetanol 0,28%). Os tubos foram colocados por 45 minutos em banho de ultrassom Branson 1210 sendo em seguida centrifugados por 15 minutos a 14.000 rpm em microcentrífuga Eppendorf 3415C. Uma alíquota de 60  $\mu$ L do sobrenadante foi retirada e colocada em outro tubo onde foram adicionados 30  $\mu$ L de tampão de amostra (Tris 0,1875 M; SDS 6,9%; glicerol 30%; pH 6,8), 20  $\mu$ L de corante azul de bromofenol 0,05% e 20  $\mu$ L de  $\beta$ -mercaptoetanol. Os tubos foram colocados em banho-maria a 100 °C por 3 minutos e foram aplicados 25  $\mu$ L dessa solução em gel de poliacrilamida 12,5%. A corrida foi inicialmente conduzida a 60 Volts, até que a banda do corante atingisse a superfície do gel de separação (~ 1h), aumentando-se a voltagem para 80 Volts até o final da corrida (~ 5h), que foi determinado como sendo 30 minutos após o corante sair na extremidade inferior do gel. Terminada a corrida, os géis foram retirados da placa e colocados em solução corante (1,5 g de Coomassie Brilliant Blue G, 90 mL de ácido acético, 450 mL de metanol e 460 mL de água) por 12 horas e depois em solução descorante (75 mL de ácido acético, 250 mL de metanol, 675 mL de água) por 24 horas. Os géis foram armazenados em solução de glicerol 10% até o momento da análise por densitometria.

A análise densitométrica foi realizada em um densitômetro fabricado pela Molecular Dynamics. O software usado para a integração da área referente às bandas foi o ImageQuant, tornando possível a determinação da quantidade de cada subunidade das proteínas de reserva presentes nos géis. As subunidades foram identificadas com base na mobilidade eletroforética constantes em trabalhos publicados (YAKLICK, 2001) e foram quantificadas com base em padrões eletroforéticos

adicionados em cada gel, que foram 2, 4, 8 e 10  $\mu\text{g}$  da proteína anidrase carbônica, o que permitiu expressar a área de cada banda do gel em mg de proteína.

Foi realizada uma única extração para cada amostra e cada extrato foi aplicado em três géis, sendo que o valor para cada subunidade de cada amostra foi tomado como sendo a média dos três géis. Em todas as análises foi usada uma mesma amostra padrão, denominada padrão de extração (Monarca), que foi extraída, aplicada no gel e quantificada junto com as outras amostras. Este padrão de extração foi adicionado nas análises para corrigir as possíveis diferenças de extração e das condições de eletroforese que podem ocorrer entre uma análise e outra.

Os fatores de correção para as concentrações de cada subunidade protéica em cada gel foram conseguidos dividindo-se o valor da referida subunidade do padrão de extração (Monarca) daquele gel pela média geral da mesma (calculadas a partir de todos os padrões de extração em todos os géis). Os valores das concentrações das subunidades das amostras foram divididos por esse valor para se obter as concentrações corrigidas de cada subunidade. Dessa forma, o conteúdo de cada subunidade analisada de cada gel possuiu um fator de correção diferente.

### **3.2.2. Determinação da concentração de proteína total pelo método de Kjeldahl**

A concentração de proteína total das sementes de cada genótipo foi determinada com base no método Kjeldahl, descrito nas normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

Na fase de digestão, para que a amostra fosse oxidada, adicionou-se ao tubo digestor 10 mL de uma mistura digestora (1 L de ácido sulfúrico, 10 g de sulfato de cobre e 10 g de selênio). Os tubos foram colocados no bloco digestor e aquecidos gradativamente até uma temperatura de 340 °C, permanecendo nesta temperatura por uma hora, quando então foram retirados do bloco digestor e esfriados à temperatura ambiente por 15 minutos. Adicionou-se a cada tubo peróxido de hidrogênio 30% (v/v) sendo novamente levados ao aquecimento por 1 hora, após o qual foram novamente esfriados e adicionados a cada um 10 mL de água destilada. No processo de oxidação, o nitrogênio presente na amostra foi convertido em sais de amônio, que permanecem no digerido. Para cada análise realizada foi necessário o preparo de um branco, que era formado pela mistura digestora e pelo papel empregado na pesagem das amostras.

Na fase de destilação, o tubo digestor contendo o material digerido foi conectado ao aparelho de destilação, o qual apresentava na outra extremidade uma ponta mergulhada em um frasco erlenmeyer contendo solução de ácido bórico 4% e indicador misto de Tashiro. Adicionou-se no tubo contendo a amostra digerida, aproximadamente 25 mL de hidróxido de sódio 40% (m/v). Os sais de amônio presentes no tubo foram alcalinizados pela adição do hidróxido de sódio resultando na formação de amônia. Por arraste de vapor durante a destilação, a amônia foi recolhida no erlenmeyer contendo a solução de ácido bórico formando o metaborato de amônia, responsável pela mudança de cor do indicador.

Na fase de titulação, o metaborato de amônio foi titulado por solução diluída de ácido clorídrico, até nova mudança de cor do indicador de pH. A quantidade de ácido que foi gasto na titulação correspondia a concentração de amônia, que por sua vez representava a concentração de nitrogênio da amostra. A partir da concentração de nitrogênio, calculou-se a porcentagem de proteína da amostra, empregando-se um fator de conversão de nitrogênio em proteína, que varia de acordo com a proteína em análise. O fator mais usado é 6,25, baseado no fato de que a maioria das proteínas contêm 16% de nitrogênio.

Para o cálculo da porcentagem de proteína utilizou-se a equação 1:

$$\%PT = \left( \frac{(V_A - V_B) \times M \times f \times 1,4}{P} \right) \times FCN \quad \text{Equação 1}$$

onde:

%PT = porcentagem de proteína total;

$V_A$  = volume (mL) de solução de HCl gastos na titulação da amostra;

$V_B$  = volume (mL) de solução de HCl gastos na titulação do branco;

$M$  = molaridade da solução de HCl;

$f$  = fator de correção da concentração da solução de HCl;

$P$  = massa (g) da amostra; e

$FCN$  = fator de conversão de nitrogênio para proteína (para a soja é igual a 6,25).

### 3.2.3. Determinação da atividade enzimática das lipoxigenases 1 e 3

As atividades de LOXs foram determinadas espectrofotometricamente de acordo com OLIVEIRA et al. (1998). Para isto, pesou-se cerca de 60 mg de semente que foi macerada em gral previamente resfriado para manter a atividade da lipoxigenase. A maceração foi realizada com 1800  $\mu\text{L}$  de tampão contendo Tris 60 mM, pH 8,2,  $\text{CaCl}_2$  15 mM e sacarose 13%. O homogenato foi centrifugado a 13.000 rpm por 20 minutos a 4°C. Uma alíquota do extrato foi diluída na proporção 1:1 (v/v) para realização da determinação da atividade enzimática. Outra alíquota foi reservada para posterior determinação do conteúdo de proteína no extrato.

A determinação da atividade dessas enzimas foi realizada medindo-se a absorvância, após 2 minutos de reação, a 234 e 280 nm para LOX 1 e 3, respectivamente. Para LOX 1, as amostras eram constituídas de 1 mL de tampão borato de sódio 0,1 M, pH 9,5, 6  $\mu\text{L}$  de linoleato de sódio 10mM e 2,5  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático. Para LOX 3, as amostras eram constituídas de 1 mL de tampão fosfato de sódio 0,2 M, pH 6,8, 35  $\mu\text{L}$  de linoleato de sódio 10 mM e 15  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático.

A partir dos valores de absorvância obtidos em 234 e 280 nm para cada amostra, foram calculadas as velocidades de formação dos produtos, utilizando-se a equação 2, cujos valores são expressos em  $\text{M.s}^{-1}$ . A atividade específica foi obtida pela divisão destes valores pela quantidade de proteína encontradas no extrato de cada amostra, sendo expressa em  $\text{M.s}^{-1}.\text{mg}^{-1}$ .

$$\text{Atividade} = \frac{A_{(234 \text{ ou } 280)}}{\varepsilon \cdot l \cdot t} \quad \text{Equação 2}$$

onde:

$A_{234}$  e  $A_{280}$  = absorvância a 234 nm e a 280 nm, respectivamente;

$\varepsilon$  = coeficiente de extinção molar dos hidroperóxidos do ácido linoléico a 234 nm ( $\varepsilon = 25000 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ ) e 280 nm ( $\varepsilon = 22000 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ );

t = tempo de incubação (120 s); e

l = espessura da cubeta (1,0 cm).

### 3.2.4. Determinação da solubilidade protéica em KOH 0,2%

A determinação da solubilidade protéica foi realizada com base na metodologia publicada no Diário Oficial da União, seção 1-19818. O método baseia-se na extração e determinação da fração de nitrogênio da amostra solúvel em solução de hidróxido de potássio 0,2%. A partir da concentração de nitrogênio, calculou-se a porcentagem de proteína da amostra, empregando-se um fator de conversão de nitrogênio em proteína, que varia de acordo com a proteína em análise. O fator mais usado é 6,25, baseado no fato de que a maioria das proteínas contêm 16% de nitrogênio.

Pesou-se cerca de 2g de soja moída, que foram colocadas em erlenmeyer de 250mL, acrescentando-se 100 mL de solução de KOH 0,2%. O erlenmeyer foi colocado em banho-maria a 25°C e a amostra foi agitada por um agitador mecânico digital modelo TE-039/1 da TECNAL a 150 rpm, por 20 minutos. Após agitação, as amostras foram centrifugadas a 1090 x g. Foram recolhidos 10 mL do sobrenadante para quantificação da proteína solúvel com base no método Kjeldahl, descrito nas normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

O cálculo da solubilidade protéica foi realizado utilizando a equação 3 que segue:

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{\text{Proteína solúvel em KOH}}{\text{Proteína total}} \times 100\% \quad \text{Equação 3}$$

### 3.3. Análises estatísticas

Os dados foram submetidos a análises estatísticas de acordo com os objetivos do presente trabalho, utilizando para isso os programas GENES (CRUZ, 2001) e SAEG (RIBEIRO Jr, 2001).

#### 3.3.1. Análise de variância

O experimento foi desenvolvido em três municípios em Minas Gerais (Paracatu, São Gotardo e Rio Paranaíba) e um em Goiás (Bom Jesus de Goiás).

Realizou-se análise de variância conjunta para avaliar a existência de variabilidade genética entre os cultivares estudado e o efeito de ambientes, por meio do

delineamento experimental em blocos casualizados, considerando-se o esquema fatorial 25 x 4 (genótipos x ambientes), com três repetições (LOX 1, LOX 3 e proteína total) e duas repetições (proteína solúvel e subunidades protéicas). Utilizou-se o teste F a 5% para testar as hipóteses dos efeitos principais e das interações, em que os efeitos de genótipos e ambientes foram considerados fixos, e ainda o teste de Skott-Knott para agrupamento dos genótipos e ambientes.

O modelo estatístico adotado foi o descrito na equação 4:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + B/A_{jk} + A_j + GA_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad \text{Equação 4}$$

onde:

$Y_{ijk}$  = valor da característica para o i-ésimo genótipo ( $i = 1, 2, \dots, g$ ) no j-ésimo ambiente ( $j = 1, 2, \dots, a$ ) no k-ésimo bloco ( $k = 1, 2, \dots, b$ );

$\mu$  = média geral;

$G_i$  = efeito do i-ésimo genótipo;

$B/A_{jk}$  = efeito do k-ésimo bloco dentro do j-ésimo ambiente;

$A_j$  = efeito do j-ésimo ambiente;

$GA_{ij}$  = efeito da interação do i-ésimo genótipo com o j-ésimo ambiente;

$\varepsilon_{ijk}$  = erro aleatório.

### 3.3.2. Análise de correlação fenotípica entre os caracteres

Estimou-se o coeficiente de correlação fenotípico entre as características avaliadas, por meio da correlação de Pearson conforme a Equação 5, nos ambientes individualmente e em conjunto. As significâncias das correlações foram testadas pelo teste t ao nível de 5% de probabilidade.

$$r_{xy} = \frac{C\hat{O}V(X, Y)}{\sqrt{\hat{V}(X) \cdot \hat{V}(Y)}} \quad \text{Equação 5}$$

onde:

$r_{xy}$  = estimador do coeficiente de correlação fenotípica entre as características X e Y;

$C\hat{O}V(X,Y)$  = estimador da covariância fenotípica entre as características X e Y;

$\hat{V}(X)$  e  $\hat{V}(Y)$  = estimadores das variâncias fenotípicas das características X e Y, respectivamente.

### 3.3.3. Interação genótipo x ambiente

Avaliou-se a interação genótipos x ambientes com o objetivo de verificar o comportamento diferencial dos genótipos quanto às características de interesse em face das variações ambientais, identificando ambientes com padrões de dissimilaridade. As medidas de dissimilaridades utilizadas neste trabalho foram obtidas por intermédio da Correlação de Pearson dada pela expressão:

$$r = \frac{\text{Cov}(Y_{ij}, Y_{ij'})}{\sqrt{V(Y_{ij}) \cdot V(Y_{ij'})}} \quad \text{Equação 6}$$

onde:

$r$  = estimador do coeficiente de correlação fenotípica entre os ambientes  $j$  e  $j'$ ;

$V(Y_{ij})$  = o valor do  $i$ -ésimo genótipo no  $j$ -ésimo ambiente;

$V(Y_{ij'})$  = o valor do  $i$ -ésimo genótipo no  $j'$ -ésimo ambiente.

### 3.3.4. Coeficiente de coincidência

Foram calculadas concordâncias de ocorrência (Coeficientes de Coincidência) utilizando a correlação de Pearson, para as observações superiores dos genótipos selecionados, para cada par de caracteres em relação a um nível de 20% de intensidade de seleção. O objetivo foi a verificação de genótipos superiores para o maior número possível de caracteres conjuntamente.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Análises de variância

Os resultados das análises de variância conjunta testando os efeitos de genótipo, de ambiente e da interação genótipo x ambiente para concentração de proteína e atividade específica de lipoxigenases 1 (LOX 1) e 3 (LOX 3) são apresentados na Tabela 2, para a concentração de proteína solúvel em KOH, concentrações das subunidades das proteínas de reservas glicínica (subunidades ácidas e básicas) e  $\beta$ -conglícinina (subunidades  $\alpha'$ ,  $\alpha$  e  $\beta$ ) na Tabela 3. Nelas também estão representadas as médias e os coeficientes de variação de cada característica.

Tabela 2 - Resumo da análise de variância conjunta para concentração de proteína (PT), atividades específicas de lipoxigenase 1 (LOX 1) e lipoxigenase 3 (LOX 3) avaliadas em 25 genótipos de soja cultivados em quatro ambientes (Paracatu-MG, São Gotardo-MG, Rio Paranaíba-MG e Bom Jesus de Goiás-GO)

FV	GL	Quadrado Médio		
		PT	LOX 1	LOX 3
Blocos/Ambiente	8	2,60	3580,44	41,91
Genótipo (G)	24	9,90*	1933,40*	9,68*
Ambiente (A)	3	34,75*	31261,73*	183,32*
G x A	72	2,38*	332,81 <sup>n.s.</sup>	3,63 <sup>n.s.</sup>
Resíduo	192	0,75	272,47	4,37
Média		39,49	49,54	4,97
CV (%)		2,19	33,32	35,51

\* significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

<sup>n.s.</sup> não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 3 - Resumo da análise de variância conjunta para a concentração de proteína solúvel em KOH (PS) e concentrações das subunidades das proteínas de reservas glicínica (ácidas e básicas) e  $\beta$ -conglícinina ( $\alpha'$ ,  $\alpha$  e  $\beta$ ) avaliadas em 25 genótipos de soja cultivados em três ambientes (Paracatu-MG, São Gotardo-MG e Bom Jesus de Goiás-GO)

FV	GL	Quadrados Médios					
		PS	$\alpha'$	$\alpha$	$\beta$	Acídicas	Básicas
Bloco/Ambiente	3	3,87	163,51	603,77	141,92	888,38	538,00
Genótipo (G)	24	29,45*	37,45 <sup>n.s.</sup>	84,82 <sup>n.s.</sup>	53,90*	81,60*	98,62*
Ambiente (A)	2	112,88*	288,21*	164,15 <sup>n.s.</sup>	78,73*	1167,64*	590,13*
GxA	48	19,45*	39,78*	67,12 <sup>n.s.</sup>	7,58 <sup>n.s.</sup>	37,61 <sup>n.s.</sup>	51,37 <sup>n.s.</sup>
Resíduo	72	6,94	25,28	85,68	7,72	34,05	42,69
Média		82,86	10,15	11,10	9,74	20,30	22,21
CV (%)		3,18	49,53	83,42	28,53	28,75	29,42

\* significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

<sup>n.s.</sup> não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Houve efeito significativo da interação genótipo x ambiente para concentração de proteína, de proteína solúvel em KOH e da subunidade  $\alpha'$  ( $\beta$ -conglucina) pelo teste F a 5% de probabilidade. Estes resultados indicam a existência de diferenças no comportamento dos genótipos avaliados nos diferentes ambientes, sendo que a recomendação destes genótipos deve ser realizada de forma a maximizar estas características nos diferentes ambientes estudados (Tabelas 2 e 3).

Wilcox e Shibles (2001) encontraram interações significativas de genótipo x ambiente para concentrações de proteína, óleo, rafinose + estaquiase, e não significativa para concentrações de carboidratos totais e sacarose. Kumar et al. (2006a) encontraram interação significativa genótipo x ambiente para concentrações de proteína, óleo e ácidos graxos polinsaturados. Fehr et al. (2003) não encontraram interação significativa genótipo x ambiente para nenhuma das subunidades componentes da glicina e da  $\beta$ -conglucina.

Não foi verificado efeito significativo da interação genótipo x ambiente para as atividades específicas das lipoxigenases 1 e 3 e para as concentrações das subunidades das proteínas de reserva acídicas e básicas (glicina) e  $\alpha$  e  $\beta$  ( $\beta$ -conglucina) (Tabelas 2 e 3). Neste caso, a recomendação de genótipos visando essas características de qualidade seria a mesma nos vários ambientes testados. Estes resultados divergem daqueles obtidos por Kumar et al. (2003), que encontraram efeito significativo de interação genótipo x ambiente para as atividades das lipoxigenases 1 e 3. A divergência entre os resultados obtidos por estes autores pode estar relacionada com a variação dos genótipos estudados bem como das diferenças ambientais observadas nas diferentes localidades.

O efeito de genótipo foi significativo a 5% de probabilidade para a concentração de proteína, atividades das lipoxigenases 1 e 3, concentração de proteína solúvel em KOH e concentrações das subunidades  $\beta$ , acídicas e básicas, indicando a existência de diferenças de comportamento dos genótipos em relação a estas características, sendo assim, a recomendação de genótipos visando essas características deverá ser diferente (Tabelas 2 e 3).

O efeito de genótipo não foi significativo para concentrações das subunidades  $\alpha'$  e  $\alpha$ , indicando que não houve variabilidade genética para essas subunidades. Para tais características, os genótipos apresentaram o mesmo desempenho médio. Sendo assim,

qualquer um dos genótipos pode ser recomendado para plantio, pois o aproveitamento dessas características deverá ser o mesmo (Tabelas 2 e 3).

O efeito do ambiente foi significativo a 5% de probabilidade para concentração de proteína, para as atividades das lipoxigenases 1 e 3, para concentração de proteína solúvel em KOH e concentrações das subunidades  $\alpha'$ ,  $\beta$ , acídicas e básicas. Desta forma, a recomendação do local mais adequado ao plantio dos genótipos visando à maximização dessas características deverá ser diferente. O efeito do ambiente não foi significativo apenas para a subunidade  $\alpha$  da proteína  $\beta$ -conglucina (Tabelas 2 e 3).

Wilcox e Shibles (2001) e Kumar et al. (2006a), encontraram efeito significativo de genótipo e de ambiente para concentração de proteína. Fehr et al. (2003), encontraram efeito de genótipo significativo para quase todas as subunidades das proteínas de reserva, com exceção do polipeptídeo A<sub>3</sub> (polipeptídeo de caráter ácido) constituinte da glicina. Estes autores encontraram efeito de ambiente significativo para as proteínas glicina,  $\beta$ -conglucina e para a relação glicina/  $\beta$ -conglucina.

Foram realizados estudos de comparação entre médias para verificar o efeito de cada genótipo no conjunto de ambientes para as atividades específicas das LOX 1 e 3 e para a concentração das subunidades das proteínas de reservas glicina e  $\beta$ -conglucina (Tabela 4).

Considerando-se os resultados apresentados na Tabela 4 observa-se que, tanto para atividade específica de LOX 1 quanto de LOX 3, foram formados dois grupos, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de agrupamento Scott-Knott. Os genótipos pertencentes ao primeiro grupo (que é o de maiores médias) para LOX 1 foram Cs02449, Cs02544, Cs02564, Cs02712, Cs02936, Cs01736, Luziania, Monarca, Msoy8001, Splendor, Cs02020, Cs02054, Cs02353, Cs020521 e Cs02529 e para LOX 3 foram Cs02449, Cs02564, Cs02712, Cs02936, Cs01736, Luziania, Msoy8001, Cs02020, Cs02054 e Cs02529. Qualquer genótipo pertencente ao grupo de maiores médias poderá ser escolhido para plantio ou ser usado em cruzamentos com o objetivo de aumentar a concentração da característica em questão, pois o aproveitamento médio dessas será o mesmo.

Tabela 4 - Comparação entre médias para as atividades específicas das lipoxigenases 1 (LOX 1) e 3 (LOX 3) e para as concentrações das subunidades das proteínas de reserva glicínica (ácidas e básicas) e  $\beta$ -conglícinina ( $\alpha$  e  $\beta$ ) avaliados nos 25 genótipos de soja no ano agrícola de 2004/2005

Genótipos	LOX 1 ( $\mu\text{M}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ )	LOX 3 ( $\mu\text{M}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ )	$\alpha$ (%)	$\beta$ (%)	Acídicas (%)	Básicas (%)
Cs02133	34,41 b <sup>2</sup>	3,97 b	11,74 <sup>1</sup>	11,72 a	20,63 a	17,85 b
Cs02449	54,64 a	6,51 a	9,75	6,75 c	19,69 a	18,74 b
Cs02544	53,64 a	4,96 b	10,96	9,06 b	24,16 a	23,74 a
Cs02564	57,09 a	5,74 a	11,28	14,57 a	20,17 a	22,28 b
Cs02712	49,34 a	5,56 a	9,47	7,31 c	18,96 a	19,99 b
Cs02731	28,85 b	4,40 b	8,46	7,93 c	19,65 a	19,73 b
Cs02760	34,17 b	4,11 b	8,62	7,67 c	17,38 a	18,53 b
Cs02884	44,49 b	4,87 b	10,77	9,66 b	19,48 a	20,34 b
Cs02936	64,53 a	6,23 a	10,67	13,30 a	19,14 a	21,08 b
Cs01736	72,13 a	5,81 a	8,27	6,41 c	14,98 a	15,50 b
Luziania	67,94 a	5,89 a	9,15	13,99 a	19,97 a	21,28 b
Monarca	50,77 a	4,53 b	8,49	8,88 b	22,91 a	23,07 a
Msoy8001	55,69 a	5,46 a	7,96	5,90 c	18,94 a	21,00 b
Splendor	56,62 a	5,05 b	9,11	5,47 c	18,59 a	19,82 b
Carrera	32,84 b	3,50 b	7,02	5,99 c	14,07 a	16,10 b
Cs01074	43,43 b	4,82 b	18,25	9,70 b	19,91 a	26,12 a
Cs02020	54,24 a	6,21 a	19,21	12,33 a	23,92 a	24,02 a
Cs02054	58,05 a	6,12 a	8,79	11,94 a	21,64 a	28,69 a
Cs02302	25,03 b	3,78 b	12,86	7,22 c	21,29 a	24,47 a
Cs02353	61,20 a	4,38 b	9,68	9,24 b	16,25 a	21,97 b
Cs020521	61,05 a	4,76 b	8,30	9,99 b	23,16 a	24,53 a
Cs02529	59,21 a	5,53 a	18,57	13,71 a	23,11 a	26,11 a
Cs9877	40,10 b	4,42 b	19,87	15,44 a	32,88 a	34,04 a
Emgopa-316	36,33 b	3,83 b	9,09	7,51 c	19,82 a	25,60 a
Vencedora	42,60 b	3,70 b	11,02	11,82 a	16,79 a	20,53 b

<sup>1</sup>: não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F; <sup>2</sup>: médias seguidas pela mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Segundo Klajn et al. (1993), as lipoxigenases possuem a capacidade de promoverem a descoloração de pigmentos carotenóides e, conseqüentemente, promoverem o “branqueamento” da farinha de trigo. Indústrias de alimentos conseguem o branqueamento da farinha de trigo pela ação das lipoxigenases presentes na farinha de soja suplementar. A soja usada para produção de farinha enzimaticamente ativa deve conter maior concentração dessas enzimas. Qualquer um dos genótipos acima citados, referentes à atividade das LOX 1 e 3, e que pertencem ao grupo de maiores médias, poderão servir para esta finalidade, apresentando o mesmo aproveitamento médio.

As médias para as concentrações da subunidade  $\alpha$  ( $\beta$ -conglucina) e acídicas (glicina) não foram estatisticamente diferentes entre si, sendo assim, qualquer um dos 25 genótipos avaliados poderão ser indicados para plantio, pois o aproveitamento médio dessa característica será o mesmo (Tabela 4).

Para a concentração da subunidade  $\beta$  ( $\beta$ -conglucina), foram formados três grupos, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de agrupamento Scott-Knott. Os genótipos pertencentes ao primeiro grupo, que é o de maiores médias, foram Cs02133, Cs02564, Cs02936, Luziania, Cs02020, Cs02054, Cs02529, Cs9877 e Vencedora.

Para a concentração das subunidades básicas (glicina) foram formados dois grupos, e os genótipos pertencentes ao grupo de maiores médias foram Cs02544, Monarca, Cs01074, Cs02020, Cs02054, Cs02302, Cs020521, Cs02529, Cs9877 e Emgopa-316 (Tabela 4). A qualidade da proteína da soja está diretamente relacionada à concentração de aminoácidos sulfurados (WILCOX & SHIBLE, 2001). As proteínas glicina e  $\beta$ -conglucina, que perfazem um total de 70% das proteínas de reserva da soja, contêm baixas concentrações de aminoácidos sulfurados. Segundo Kitamura et al. (1981) e Ogawa et al. (1989), a glicina possui maior conteúdo de metionina que a  $\beta$ -conglucina. Com base nessas informações, os genótipos que apresentaram médias mais elevadas para as subunidades das proteínas de reserva glicina (acídicas e básicas) poderão ser usados em cruzamentos com o objetivo de aumentar a concentração de aminoácidos sulfurados no grão de soja.

Estes estudos de comparação entre médias (Tabela 4) permitiram observar também que os genótipos Cs02020, Cs0054 e Cs02529 foram os de destaque em relação aos demais, apresentando um desempenho superior para as características

atividade específica de LOX 1 e 3, concentração da subunidade  $\beta$  ( $\beta$ -conglucina) e da subunidades básicas (glicina).

Foram realizados estudos de comparação entre médias para verificar o efeito de cada ambiente no conjunto de genótipos para as atividades específicas das lipoxigenases 1 (LOX 1) e 3 (LOX 3) (Tabelas 5), concentrações das subunidades acídicas e básicas (glicina) e das subunidades  $\alpha$  e  $\beta$  ( $\beta$ -conglucina) (Tabela 6).

Tabela 5 - Comparação entre médias das atividades específicas de lipoxigenases 1 (LOX 1) e 3 (LOX 3) dos 25 genótipos de soja cultivados nos municípios de Bom Jesus de Goiás de Goiás-GO, Paracatu-MG, São Gotardo-MG e Rio Paranaíba-MG no ano agrícola de 2004/2005

Ambiente	LOX 1 ( $\mu\text{M}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ )	LOX 3 ( $\mu\text{M}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ )
Bom Jesus de Goiás	36,44 c	4,54 b
Paracatu	44,13 b	4,97 b
São Gotardo	79,75 a	7,05 a
Rio Paranaíba	37,82 c	3,29 c

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 6 - Comparação entre médias das concentrações das subunidades das proteínas de reservas glicina (acídicas e básicas) e  $\beta$ -conglucina ( $\alpha$  e  $\beta$ ) dos 25 genótipos de soja cultivados nos municípios de Bom Jesus de Goiás-GO, Paracatu-MG e São Gotardo-MG no ano agrícola de 2004/2005

Ambiente	$\alpha$ (%)	$\beta$ (%)	Acídicas (%)	Básicas (%)
Bom Jesus de Goiás	9,23 a	8,61 b	16,94 b	18,77 c
Paracatu	11,21 a	9,52 b	18,12 b	22,20 b
São Gotardo	12,85 a	11,09 a	25,84 a	25,64 a

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Considerando-se os resultados apresentados nas Tabelas 5 e 6, observa-se que o município de São Gotardo foi o ambiente que apresentou as maiores médias para as atividades específicas das lipoxigenases 1 e 3 e concentração das subunidades acídicas, básicas e  $\beta$ . Segundo Klajn (1993), as lipoxigenases possuem a capacidade de catalisar reações de cooxidação e promover a descoloração de pigmentos, como o

$\beta$ -caroteno. O branqueamento da farinha de trigo conseguido pela ação das lipoxigenases presentes na farinha de soja suplementar é importante para a indústria de alimentos.

As médias das atividades específicas das LOX 1 e 3 no município de São Gotardo foram, respectivamente,  $79,75 \mu\text{M}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  e  $7,05 \mu\text{M}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  (Tabela 5) e das concentrações das subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$ , acídicas e básicas, respectivamente, 12,85 %, 11,09 %, 25,84 % e 25,64 % (Tabela 6). Nas condições em que o experimento foi montado, o município de São Gotardo mostrou-se o mais adequado ao plantio dos 25 genótipos avaliados visando à maximização das características acima mencionadas.

Considerando-se os dados do estudo da interação genótipo x ambiente para concentração de proteína (Tabela 7), observa-se que os genótipos que apresentaram médias pertencentes ao grupo de maiores valores, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott, nos quatro ambientes avaliados foram Cs02712, Cs02884, Luziania, Monarca, Msoy8001, Cs02529, Cs9877 e Vencedora. Kumar et al. (2006a) encontraram efeito significativo da interação genótipo x ambiente para concentrações de proteína, óleo e ácidos graxos insaturados.

Considerando-se os dados da interação genótipo x ambiente para a concentração de proteína solúvel em KOH (Tabela 8), observa-se que os genótipos que apresentaram médias pertencentes ao grupo de maiores valores, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott, nos três ambientes avaliados para esta característica foram Cs02449, Cs02544, Cs02731, Cs02760, Cs02884, Cs02936, Luziania, Msoy8001, Cs01074, Cs02020, Cs02353, Cs02529, Cs9877 e Vencedora.

Tabela 7 - Comparação entre médias para a concentração de proteína (%) avaliados nos 25 genótipos de soja cultivados nos municípios de Bom Jesus de Goiás-GO, Paracatu-MG, São Gotardo-MG e Rio Paranaíba-MG no ano agrícola 2004/2005

Genótipos	Ambientes			
	Bom Jesus de Goiás	Paracatu	São Gotardo	Rio Paranaíba
Cs02133	38,67 dB	39,14bB	38,85 aB	40,36 bA
Cs02449	37,47 dB	38,17 cA	36,97 bB	39,20 bA
Cs02544	39,19 cB	38,76 cB	39,37 aB	41,09 aA
Cs02564	39,05 cB	40,40 aB	39,66 aB	41,68 aA
Cs02712	39,72 cA	39,89 bA	39,38 aA	40,29 bA
Cs02731	39,05 cA	38,46 cA	36,89 bB	39,34 bA
Cs02760	38,99 cA	39,31 bA	37,86 bB	39,71 bA
Cs02884	39,16 cA	39,64 bA	38,90 aA	40,63 bA
Cs02936	38,51 dB	39,49 bB	39,29 aB	41,88 aA
Cs01736	37,67dB	38,81 cA	37,90 bB	39,60 bA
Luziania	40,03 cA	41,08 aA	41,26 aA	39,83 bA
Monarca	41,57 bA	40,46 aA	40,18 aA	40,79 aA
Msoy8001	38,67 dA	38,54 cA	37,84 bA	39,38 bA
Splendor	41,82 bA	40,77 aB	39,77 aB	42,04 aA
Carrera	41,56 bA	39,44 bB	39,29 aB	39,47 bB
Cs01074	41,12bA	36,85 dC	38,88 aB	39,58 bB
Cs02020	38,72 dB	37,82 cB	38,47 bB	39,97 bA
Cs02054	41,75 bA	38,14 cB	38,80 aB	41,47 aA
Cs02302	43,74 aA	41,54 aB	39,57 aC	42,35 aB
Cs02353	40,20 cA	39,17 bB	38,06 bB	40,09 bA
Cs020521	37,47 dB	38,27 cB	38,90 aA	39,89 bA
Cs02529	38,45 dA	38,31 cA	38,73 aA	39,84 bA
Cs9877	38,44 dA	38,23 cA	39,21 aA	39,51 bA
Emgopa-316	40,53 bA	36,65 dC	38,58 aB	41,17 aA
Vencedora	39,73 cA	39,42 bA	38,99 aA	40,38 bA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 8 - Comparação entre médias da concentração de proteína solúvel em KOH (%) avaliada nos 25 genótipos de soja cultivados nos municípios de Bom Jesus de Goiás-GO, Paracatu-MG e São Gotardo-MG no ano agrícola 2004/2005

Genótipos	Ambientes		
	Bom Jesus de Goiás	Paracatu	São Gotardo
Cs02133	78,10 bB	78,82 bB	84,26 bA
Cs02449	78,67 bA	84,66 aA	82,62 bA
Cs02544	81,27 bA	81,60 bA	77,34 cA
Cs02564	80,67 bB	81,28 bB	87,31 aA
Cs02712	75,47 bB	77,59 bB	85,57 aA
Cs02731	81,51 bA	82,63 bA	83,90 bA
Cs02760	80,22 bA	81,64 bA	81,38 bA
Cs02884	80,12 bA	84,49 aA	83,16 bA
Cs02936	80,08 bA	82,30 bA	86,24 aA
Cs01736	77,84 bB	88,44 aA	83,24 bA
Luziania	84,56 aA	80,88 bA	85,03 aA
Monarca	79,70 bB	84,55 aA	76,90 cB
Msoy8001	79,93 bA	78,05 bA	80,97 bA
Splendor	79,78 bB	81,74 bB	87,34 aA
Carrera	82,40 bB	88,25 aA	81,85 bB
Cs01074	87,31 aA	87,28 aA	83,35 bA
Cs02020	82,03 bA	85,40 aA	86,56 aA
Cs02054	80,02 bB	85,00 aA	87,74 aA
Cs02302	80,14 bB	78,16 bB	88,64 aA
Cs02353	83,98 aA	82,98 bA	85,91 aA
Cs020521	85,60 aA	80,54 bB	77,66 cB
Cs02529	79,71 bA	82,14 bA	83,02 bA
Cs9877	89,36 aA	90,17 aA	88,49 aA
Emgopa-316	77,03 bB	88,53 aA	89,09 aA
Vencedora	83,72 aA	85,88 aA	83,99 bA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Considerando-se os dados da interação genótipo x ambiente para concentração da subunidade  $\alpha'$  (Tabela 9) observa-se que os genótipos que apresentaram médias pertencentes ao grupo de maiores valores, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott, nos três ambientes avaliados para esta característica foram Cs02133, Cs02449, Cs02544, Cs02564, Cs02712, Cs02731, Cs02760, Cs02884, Cs02936, Cs01736, Luziania, Monarca, Msoy8001, Splendor, Carrera, Cs01074, Cs02302, Cs02529 e Vencedora.

Com base nos dados apresentados para os estudos das interações genótipo x ambiente nas Tabelas 7, 8 e 9, observou-se que os genótipos podem apresentar diferenças no desempenho, para as características em questão, em relação ao ambiente de cultivo e isso deve ser levado em consideração na escolha do genótipo mais apropriado ao cultivo em cada região.

Os genótipos Cs02884, Luziania, Msoy8001, Cs02529 e Vencedora se destacaram em relação aos demais avaliados apresentando um desempenho superior para as três características em estudo: concentração de proteína, de proteína solúvel e da subunidade  $\alpha'$  em todos os ambientes avaliados.

Com base nos resultados apresentados nas Tabelas 4, 7, 8 e 9 observa-se que o genótipo Cs02529 se destacou para a maioria das características avaliadas: atividades específicas de lipoxigenase 1 e 3, concentração das subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$ , acídicas e básicas (Tabela 4), concentração de proteína (Tabela 7), concentração de proteína solúvel em KOH (Tabela 8) e concentração da subunidade  $\alpha'$  (Tabela 9).

Tabela 9 - Comparação entre médias para a concentração da subunidade  $\alpha'$  (%) avaliadas nos 25 genótipos de soja cultivados nos municípios de Bom Jesus de Goiás-GO, Paracatu-MG e São Gotardo-MG no ano agrícola 2004/2005

Genótipos	Ambientes		
	Bom Jesus de Goiás	Paracatu	São Gotardo
Cs02133	8,13 aA	10,19 aA	10,20 cA
Cs02449	6,76 aA	9,29 aA	8,58 cA
Cs02544	9,28 aA	10,37 aA	10,83 cA
Cs02564	8,01 aA	11,27 aA	9,16 cA
Cs02712	9,64 aA	12,56 aA	7,22 cA
Cs02731	6,98 aA	8,44 aA	8,66 cA
Cs02760	9,06 aA	6,71 aA	6,89 cA
Cs02884	7,68 aA	7,27 aA	7,53 cA
Cs02936	7,84 aA	12,65 aA	9,36 cA
Cs01736	7,17 aA	10,38 aA	7,33 cA
Luziania	8,66 aA	9,97 aA	7,87 cA
Monarca	9,18 aA	9,93 aA	7,73 cA
Msoy8001	6,39 aA	8,16 aA	8,06 cA
Splendor	8,41 aA	11,02 aA	9,36 cA
Carrera	9,76 aA	6,33 aA	9,53 cA
Cs01074	10,52 aA	7,51 aA	16,32 bA
Cs02020	7,74 aB	7,96 aB	25,02 aA
Cs02054	10,50 aB	9,58 aB	30,38 aA
Cs02302	8,46 aA	9,54 aA	16,91 bA
Cs02353	7,18 aB	4,84 aB	18,47 bA
Cs020521	7,19 aB	11,33 aB	19,28 bA
Cs02529	9,66 aA	5,17 aA	10,26 cA
Cs9877	9,00 aB	6,70 aB	28,61 aA
Emgopa-316	9,83 aB	9,52 aB	23,24 aA
Vencedora	10,31 aA	8,65 aA	5,99 cA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

## 4.2. Correlações fenotípicas entre os caracteres

O conhecimento da associação entre caracteres é de grande importância nos trabalhos de melhoramento, principalmente se a seleção de um caráter apresentar dificuldades, por exemplo, por ser de difícil medição (CRUZ & REGAZZI, 1997).

O conhecimento da correlação nos fornece uma idéia de como a seleção para um caráter influencia a expressão de outros caracteres. A correlação nada mais é do que a medida da intensidade de associação entre duas variáveis (STEEL & TORRIE, 1980).

Valores positivos para coeficiente de correlação indicam a tendência de uma variável aumentar quando a outra aumenta, valores negativos indicam a tendência de uma variável aumentar enquanto a outra diminui (RIBEIRO Jr. et al., 2001).

As estimativas dos coeficientes de correlação fenotípica obtidas entre pares de caracteres para as atividades específicas de lipoxigenases 1 (LOX 1) e 3 (LOX 3), concentração de proteína (PT), concentração de proteína solúvel em KOH (PS) e concentrações das subunidades das proteínas de reserva glicínica (ácidas e básicas) e  $\beta$ -conglícinina ( $\alpha'$ ,  $\alpha$  e  $\beta$ ) avaliados em soja, utilizando-se o método de correlação de Pearson, encontram-se nos Tabelas 10, 11, 12 e 13.

Observa-se a ocorrência de interação positiva entre as atividades específicas das lipoxigenases 1 (LOX 1) e 3 (LOX 3) quando se analisa conjuntamente todos os ambientes (Tabela 10) e quando se considera os ambientes separadamente (Tabelas 11, 12 e 13).

Tabela 10 - Correlações fenotípicas entre as características atividade específica de lipoxigenases 1 (LOX 1) e 3 (LOX 3), concentração de proteína (PT), concentração de proteína solúvel em KOH (PS), concentração das subunidades das proteínas de reserva glicínica (ácidas e básicas) e  $\beta$ -conglícinina ( $\alpha'$ ,  $\alpha$  e  $\beta$ ), avaliadas conjuntamente, em 25 genótipos de soja cultivados nos municípios de Bom Jesus de Goiás-GO, Paracatu-MG e São Gotardo-MG no ano agrícola 2004/2005

	LOX 3	PT	PS	$\alpha'$	$\alpha$	$\beta$	Ácidas	Básicas
LOX 1	0,66*	-0,16	-0,09	-0,07	-0,06	0,14	-0,06	-0,09
LOX 3		-0,29	-0,10	-0,01	0,14	0,19	0,12	0,00
PT			-0,07	-0,03	-0,16	-0,02	-0,10	0,00
PS				0,53*	0,49*	0,39*	0,28	0,51*
$\alpha'$					0,35*	0,32	0,55*	0,76*
$\alpha$						0,57*	0,63*	0,62*
$\beta$							0,55*	0,53*
Ácidas								0,82*

\*: significativo a 5% de probabilidade pelo teste t.

Tabela 11 - Correlações fenotípicas entre as características atividades específicas de lipoxigenase 1 (LOX 1) e 3 (LOX 3), concentração de proteína (PT), concentração de proteína solúvel em KOH (PS), concentração das subunidades das proteínas de reserva glicínica (ácidas e básicas) e  $\beta$ -conglícinina ( $\alpha'$ ,  $\alpha$  e  $\beta$ ) avaliadas em 25 genótipos de soja cultivados no município de Bom Jesus de Goiás-GO no ano agrícola 2004/2005

	LOX 3	PT	PS	$\alpha'$	$\alpha$	$\beta$	Ácidas	Básicas
LOX 1	0,77*	-0,64*	-0,17	-0,54*	-0,17	0,16	-0,33	-0,24
LOX 3		-0,56*	-0,33	-0,60*	-0,12	0,16	-0,23	-0,21
PT			-0,07	0,54*	0,20	-0,17	0,31	0,27
PS				0,10	0,08	0,33	0,31	0,48*
$\alpha'$					0,48*	0,25	0,23	0,41*
$\alpha$						0,57*	0,35*	0,49*
$\beta$							0,09	0,33
Ácidas								0,80*

\*: significativo a 5% de probabilidade pelo teste t.

Tabela 12 - Correlações fenotípicas entre as características atividades específicas de lipoxigenase 1 (LOX 1) e 3 (LOX 3), concentração de proteína (PT), concentração de proteína solúvel em KOH (PS), concentração das subunidades das proteínas de reserva glicínica (ácidas e básicas) e  $\beta$ -conglícinina ( $\alpha'$ ,  $\alpha$  e  $\beta$ ) avaliadas em 25 genótipos de soja cultivados no município de Paracatu-MG no ano agrícola 2004/2005

	LOX 3	PT	PS	$\alpha'$	$\alpha$	$\beta$	Acídicas	Básicas
LOX 1	0,53*	-0,05	0,16	0,08	0,22	0,27	0,14	0,16
LOX 3		-0,26	0,17	-0,02	0,50*	0,51*	0,31	0,34*
PT			-0,59*	0,32	-0,10	0,04	0,02	-0,04
PS				-0,36*	0,17	0,06	0,04	0,00
$\alpha'$					-0,35*	0,11	0,25	0,16
$\alpha$						0,68*	0,64*	0,16
$\beta$							0,57*	0,32
Acídicas								0,20

\*: significativo a 5% de probabilidade pelo teste t.

Tabela 13 - Correlações fenotípicas entre as características atividades específicas de lipoxigenase 1 (LOX 1) e de lipoxigenase 3 (LOX 3), concentração de proteína (PT), concentração de proteína solúvel em KOH (PS), concentração das subunidades das proteínas de reserva glicínica (ácidas e básicas) e  $\beta$ -conglícinina ( $\alpha'$ ,  $\alpha$  e  $\beta$ ) avaliadas em 25 genótipos de soja cultivados no município de São Gotardo-MG no ano agrícola 2004/2005

	LOX 3	PT	PS	$\alpha'$	$\alpha$	$\beta$	Acídicas	Básicas
LOX 1	0,74*	0,12	-0,02	-0,08	0,00	0,03	0,00	-0,12
LOX 3		-0,20	0,09	-0,08	0,14	-0,04	0,00	-0,21
PT			-0,03	-0,10	-0,09	0,16	0,00	0,07
PS				0,44*	0,20	0,33	0,15	0,19
$\alpha'$					0,36*	0,62*	0,72*	0,71*
$\alpha$						0,47*	0,37*	0,30
$\beta$							0,75*	0,59*
Acídicas								0,79*

\*: significativo a 5% de probabilidade pelo teste t.

Analisando-se conjuntamente todos os ambientes (Tabela 10), a correlação entre a concentração de proteína e as demais características não foram significativas. Em estudos sobre correlações entre concentração de proteína e das proteínas de reserva 7S e 11S, Teixeira (2003) não detectou correlação entre concentração de proteína e 11S, nem entre a concentração de proteína e 7S. Fehr et al. (2003) encontraram correlação negativa entre concentração de proteína e 7S e positiva entre concentração de proteína e 11S e concentração de proteína e a relação 11S:7S. Harada et al. (1983)

não encontraram correlação entre concentração de proteína e relação 11S:7S. Soares et al. (2004) encontraram correlação positiva e alta entre concentração de proteína e das subunidades acídicas e básicas (glicinina) e entre concentração de proteína e concentração de glicinina e entre concentração de proteína e o total de proteínas de reserva (11S + 7S).

Os resultados apresentados nas Tabelas 10, 11, 12 e 13 demonstram que não existe um padrão de resposta entre as correlações para a concentração de proteína e das subunidades das proteínas de reserva, quando essa avaliação é realizada utilizando diferentes genótipos de soja cultivados em ambientes também diferentes.

Kumar et al. (2006b) encontraram correlações negativas entre concentração de proteína e alguns fatores climáticos, concentração de proteína e latitude, concentração de proteína e precipitações pluviais (durante o desenvolvimento do grão e durante a estação de semeadura) e encontraram correlação positiva entre concentração de proteína e temperatura média diária durante o desenvolvimento do grão de soja. Com base nestas observações, pode-se inferir que, mudanças no comportamento de um genótipo em resposta a variações ambientais interferem de forma direta na correlação entre a concentração de proteína e as outras características avaliadas.

Foram obtidas correlações significativas entre concentração de proteína e algumas das demais características apenas quando este estudo foi realizado em ambientes separados (Tabela 11, 12 e 13). Em Bom Jesus de Goiás-GO (Tabela 11), a correlação foi significativa entre concentração de proteína e concentração da subunidade  $\alpha'$  apresentando valor de coeficiente de correlação de 0,54.

Analisando-se conjuntamente todos os ambientes (Tabela 10), as correlações foram significativas entre a concentração de proteína solúvel em KOH e as concentrações das subunidades  $\alpha'$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$  e básicas, sendo os valores das correlações, respectivamente 0,53, 0,49, 0,39, e 0,51.

Quando se considerou ambientes separados, houve correlação significativa entre a concentração de proteína solúvel em KOH e as subunidades básicas no município de Bom Jesus de Goiás-GO (Tabela 11) sendo o coeficiente de correlação 0,48. Em Paracatu-MG (Tabela 12) observou-se correlação significativa entre a concentração de proteína solúvel em KOH e a subunidade  $\alpha'$ , apresentando uma correlação negativa de -0,36; em São Gotardo-MG (Tabela 13) a correlação entre concentração de proteína solúvel em KOH e a subunidade  $\alpha'$  apresentou correlação positiva de 0,44.

Analisando-se conjuntamente todos os ambientes (Tabela 10), as correlações foram significativas entre os concentração da subunidade  $\alpha'$  e as concentrações de  $\alpha$ , acídicas e básicas, sendo os coeficientes de correlação 0,35, 0,55 e 0,76, respectivamente. Entre a concentração da subunidade  $\alpha$  e as concentrações da subunidade  $\beta$ , acídicas e básicas, os coeficientes de correlação foram 0,57, 0,63 e 0,62, respectivamente. Houve correlação significativa entre a concentração da subunidade  $\beta$  e concentrações das subunidades acídicas e básicas, apresentando coeficientes de correlação de 0,55 e 0,53, respectivamente. Como esperado, a correlação foi significativa entre as concentrações das subunidades acídicas e básicas com coeficiente de correlação de 0,82.

Coefficiente de correlação igual à zero foi encontrado entre alguns caracteres (Tabelas 11, 12 e 13), o que não implica em falta de relação, apenas reflete a ausência de relação linear entre elas (CRUZ & REGAZZI, 2001).

Com os dados de correlações entre os caracteres acima mencionados percebe-se não ser possível encontrar correlações significativas para todos os caracteres. O mais indicado seria obter correlações separadas por ambiente. Basear-se em informações mais gerais das correlações encontradas poderia levar a uma seleção de material indevido, em um ambiente específico, quando a seleção de uma das características fosse feita com base no comportamento de outra.

### **4.3. Grau de dissimilaridade entre ambientes**

Os resultados da divisão dos ambientes em grupos de ambientes com padrões de dissimilaridade (ou similaridade) entre as respostas para cada uma das características estudadas, concentração de proteína, atividades específicas de lipoxigenase 1 e 3, concentração de proteína solúvel em KOH e concentrações das subunidades das proteínas de reservas glicínina (acídicas e básicas) e  $\beta$ -conglícinina ( $\alpha'$ ,  $\alpha$  e  $\beta$ ), se encontram nos Tabelas 14, 15, 16, 17 e 18.

Segundo Cruz e Regazzi (1997), é fundamental identificar se há, entre os ambientes, padrões de similaridade entre as respostas das características avaliadas, possibilitando tomar decisões com relação à redução do número de ambientes, quando existirem, por exemplo, problemas de escassez de recursos. Pode-se também indicar um mesmo cultivar para esses ambientes.

Tabela 14 - Dissimilaridade entre ambientes utilizando o método de correlação de Pearson para a característica atividade específica de lipoxigenase 1 (LOX 1) acima da diagonal e atividade específica de lipoxigenase 3 (LOX 3) abaixo da diagonal

	Bom Jesus de Goiás	Paracatu	São Gotardo	Rio Paranaíba
Bom Jesus de Goiás		0,69*	0,64*	0,61*
Paracatu	0,10 <sup>ns</sup>		0,59*	0,79*
São Gotardo	0,57*	0,28 <sup>ns</sup>		0,48*
Rio Paranaíba	0,26 <sup>ns</sup>	0,36*	0,20 <sup>ns</sup>	

Tabela 15 - Dissimilaridade entre ambientes utilizando o método de correlação de Pearson para a característica concentração de proteína

	Bom Jesus de Goiás	Paracatu	São Gotardo	Rio Paranaíba
Bom Jesus de Goiás		0,38*	0,45*	0,53*
Paracatu			0,58*	0,45*
São Gotardo				0,48*

Tabela 16 - Dissimilaridade entre ambientes utilizando o método de correlação de Pearson para as características concentração de proteína solúvel em KOH acima da diagonal e concentração da subunidade  $\alpha'$  abaixo da diagonal

	Bom Jesus de Goiás	Paracatu	São Gotardo
Bom Jesus de Goiás		0,34*	-0,04 <sup>ns</sup>
Paracatu	-0,09 <sup>ns</sup>		0,14 <sup>ns</sup>
São Gotardo	0,21 <sup>ns</sup>	-0,18 <sup>ns</sup>	

Tabela 17 - Dissimilaridade entre ambientes utilizando o método de correlação de Pearson para as características concentração da subunidade  $\alpha$  acima da diagonal e concentração da subunidade  $\beta$  abaixo da diagonal

	Bom Jesus de Goiás	Paracatu	São Gotardo
Bom Jesus de Goiás		0,20 <sup>ns</sup>	0,22 <sup>ns</sup>
Paracatu	0,78*		0,07 <sup>ns</sup>
São Gotardo	0,58*	0,67*	

Tabela 18 - Dissimilaridade entre ambientes utilizando o método de correlação de Pearson para as características concentração das subunidades ácidas acima da diagonal e concentração das subunidades básicas abaixo da diagonal

	Bom Jesus de Goiás	Paracatu	São Gotardo
Bom Jesus de Goiás		0,11 <sup>ns</sup>	0,22 <sup>ns</sup>
Paracatu	0,21 <sup>ns</sup>		0,52*
São Gotardo	0,26 <sup>ns</sup>	0,33 <sup>ns</sup>	

Valores positivos de coeficiente de correlação referem-se a ambientes que se assemelham em relação ao comportamento da característica avaliada, sendo que, se a característica é favorecida ou desfavorecida em um dos ambientes, também será favorecida ou desfavorecida no outro ambiente. Valores negativos são indicativos de que, quando uma característica é favorecida em um ambiente, no outro ambiente será desfavorecida e vice-versa (FALCONER,1987).

Analisando-se os resultados apresentados na Tabela 14 observa-se que, para a atividade específica de lipoxigenase 1 (LOX 1), os ambientes mais fortemente correlacionados, ou seja, que apresentaram comportamentos mais similares para esta característica, foram Paracatu-MG e Rio Paranaíba-MG, os quais apresentaram coeficiente de correlação 0,79.

Em um experimento hipotético visando atividade específica de LOX 1 conduzido nos quatro municípios citados na Tabela 14 e que precisa descartar um dos ambientes, pode-se, com segurança, descartar, por exemplo, Paracatu-MG ou Rio Paranaíba-MG por possuírem correlação positiva de elevada magnitude em relação a essa característica.

Para a atividade de LOX 3, dados apresentados na diagonal inferior da Tabela 14, os ambientes de comportamentos mais similares foram Bom Jesus de Goiás-GO e São Gotardo-MG os quais apresentaram coeficiente de correlação 0,57.

Para a concentração de proteína (Tabela 15) os ambientes de comportamentos mais similares foram Paracatu-MG e São Gotardo-MG os quais apresentaram coeficiente de correlação de 0,58.

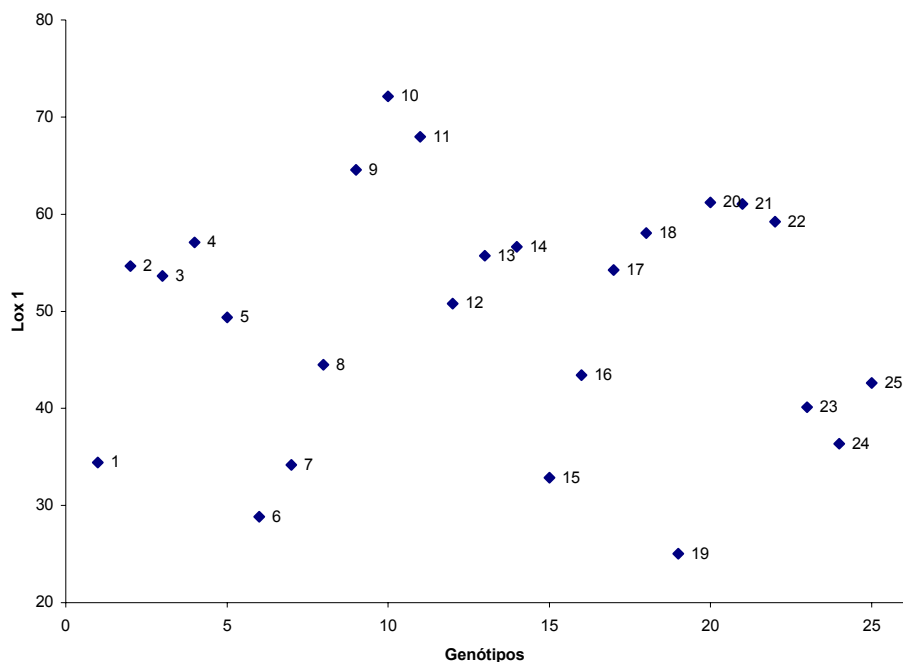
Os resultados apresentados na Tabela 16 mostram que para a concentração de proteína solúvel em KOH os ambientes que apresentaram comportamentos mais

similares foram Bom Jesus de Goiás-GO e Paracatu-MG, apresentando coeficiente de correlação de 0,34.

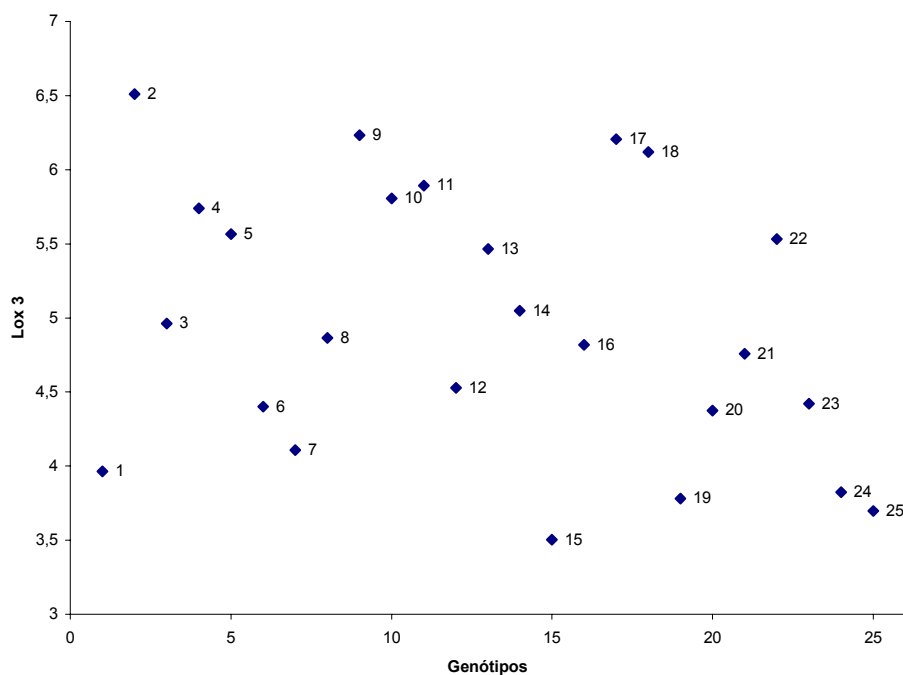
Analisando-se os dados apresentados na parte abaixo da diagonal na Tabela 16 para concentração da subunidade  $\alpha'$ , acima da diagonal na Tabela 17 para concentração da subunidade  $\alpha$  e abaixo da diagonal na Tabela 18 para concentração das subunidades básicas, observa-se que não foi possível o agrupamento de nenhum ambiente para essas características. Isso mostra que estas características apresentaram comportamentos diferentes em cada um dos ambientes avaliados.

Os resultados apresentados na diagonal inferior da Tabela 17 para a concentração da subunidade  $\beta$  mostram que esta característica apresentou comportamentos mais similares entre Bom Jesus de Goiás-GO e Paracatu-MG com coeficiente de correlação de 0,78. Para a concentração das subunidades acídicas, diagonal superior da Tabela 18, a maior similaridade de comportamento foi entre Paracatu-MG e São Gotardo-MG, apresentando coeficiente de correlação de 0,52.

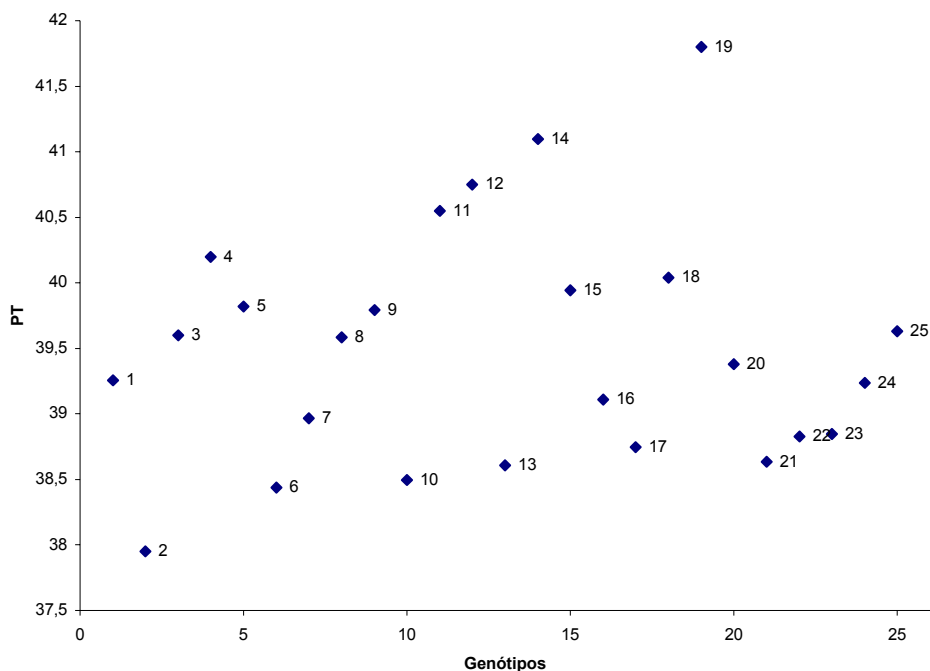
Foram criados gráficos com a finalidade de facilitar a visualização dos resultados de desempenho médio dos 25 genótipos avaliados no conjunto de ambientes para as atividades de lipoxigenase 1 e 3, concentração de proteína, concentração de proteína solúvel em KOH, concentração das subunidades das proteínas de reserva glicínica (acídicas e básicas) e  $\beta$ -conglícinina ( $\alpha'$ ,  $\alpha$  e  $\beta$ ) (Figuras 1 a 9).



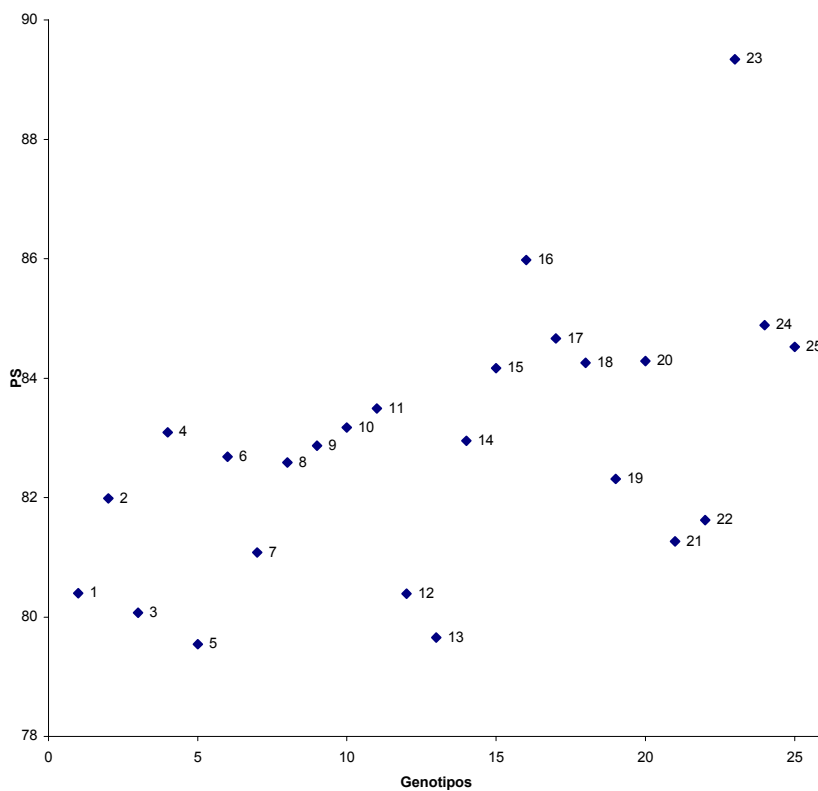
**Figura 1-** Dispersão gráfica dos 25 genótipos de soja cultivados nos municípios de Bom Jesus de Goiás-GO, Paracatu-MG, São Gotardo-MG e Rio Paranaíba-MG para a atividade de lipoxigenase 1 (LOX1). Genótipos: 1- Cs02133; 2- Cs02449; 3- Cs02544; 4- Cs02564; 5- Cs02712; 6- Cs02731; 7- Cs02760; 8- Cs02884; 9- Cs02936; 10- Cs01736; 11- Luziania; 12- Monarca; 13- Msoy8001; 14- Splendor; 15- Carrera; 16- Cs01074; 17- Cs02020; 18- Cs02054; 19- Cs02302; 20- Cs02353; 21- Cs020521; 22- Cs02529; 23- Cs9877; 24- Emgopa-316 e 25- Vencedora.



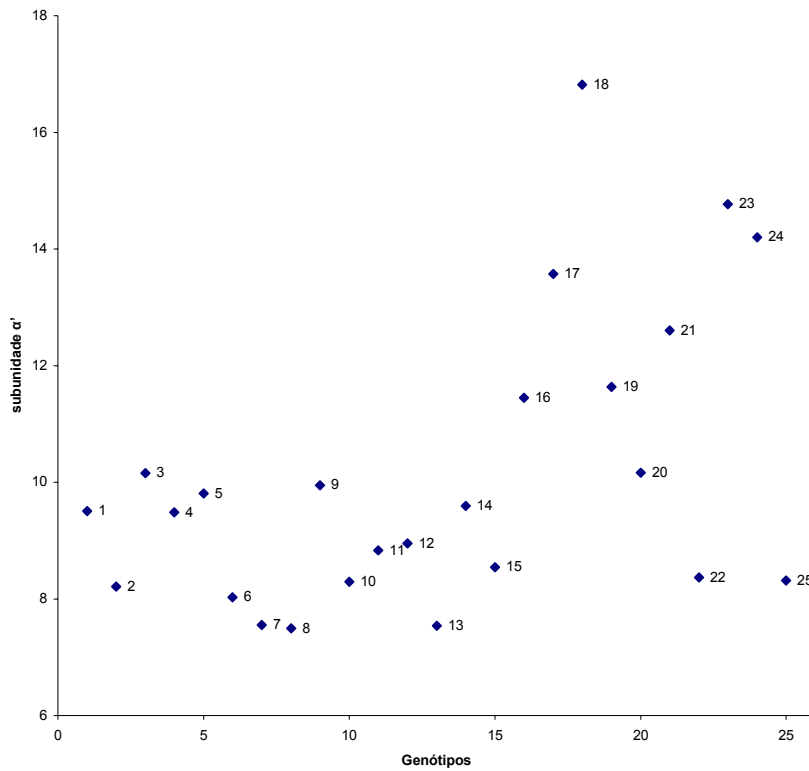
**Figura 2-** Dispersão gráfica dos 25 genótipos de soja cultivados nos municípios de Bom Jesus de Goiás-GO, Paracatu-MG, São Gotardo-MG e Rio Paranaíba-MG para a atividade de lipoxigenase 3 (LOX3). Genótipos: 1- Cs02133; 2- Cs02449; 3- Cs02544; 4- Cs02564; 5- Cs02712; 6- Cs02731; 7- Cs02760; 8- Cs02884; 9- Cs02936; 10- Cs01736; 11- Luziania; 12- Monarca; 13- Msoy8001; 14- Splendor; 15- Carrera; 16- Cs01074; 17- Cs02020; 18- Cs02054; 19- Cs02302; 20- Cs02353; 21- Cs020521; 22- Cs02529; 23- Cs9877; 24- Emgopa-316 e 25- Vencedora.



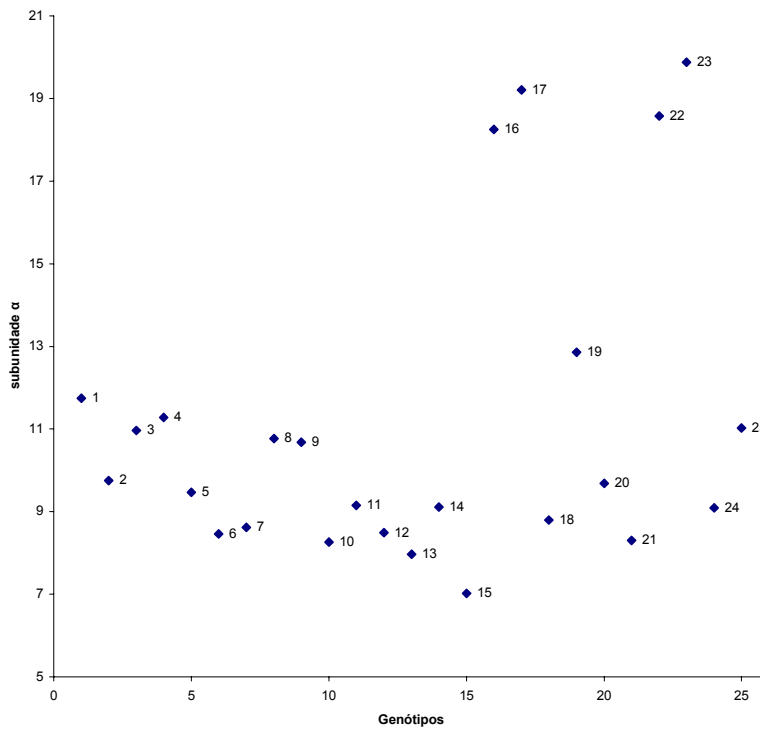
**Figura 3-** Dispersão gráfica dos 25 genótipos de soja cultivados nos municípios de Bom Jesus de Goiás-GO, Paracatu-MG, São Gotardo-MG e Rio Paranaíba-MG para a concentração de proteína (PT). Genótipos: 1- Cs02133; 2- Cs02449; 3- Cs02544; 4- Cs02564; 5- Cs02712; 6- Cs02731; 7- Cs02760; 8- Cs02884; 9- Cs02936; 10- Cs01736; 11- Luziania; 12- Monarca; 13- Msoy8001; 14- Splendor; 15- Carrera; 16- Cs01074; 17- Cs02020; 18- Cs02054; 19- Cs02302; 20- Cs02353; 21- Cs020521; 22- Cs02529; 23- Cs9877; 24- Emgopa-316 e 25- Vencedora.



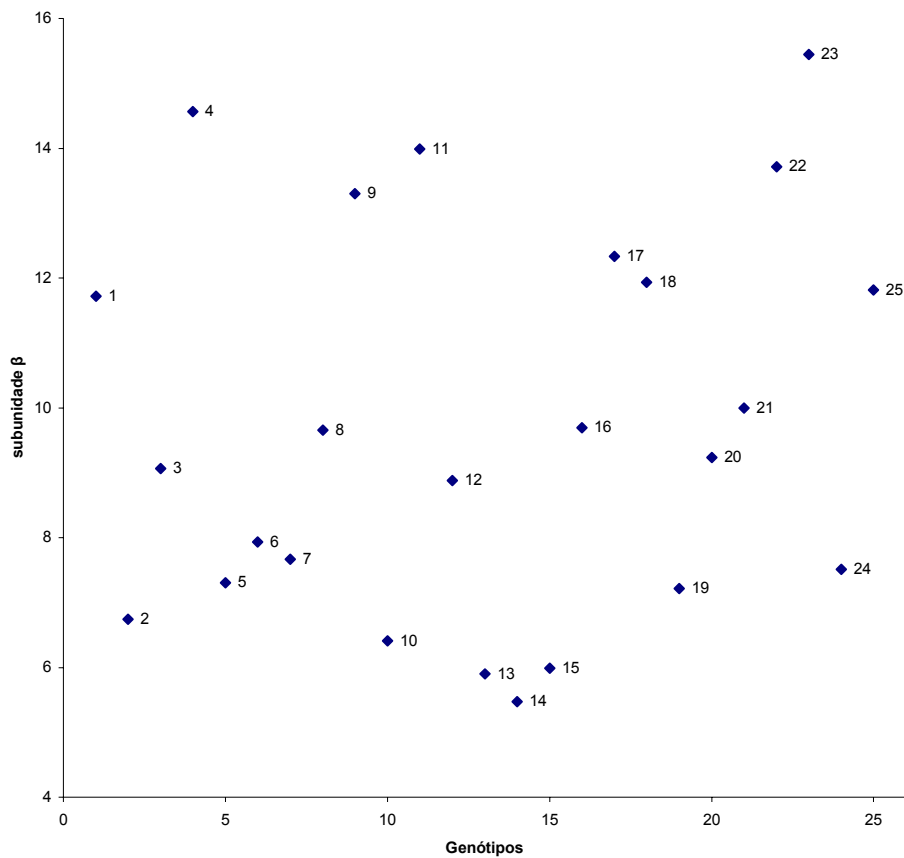
**Figura 4-** Dispersão gráfica dos 25 genótipos de soja cultivados nos municípios de Bom Jesus de Goiás-GO, Paracatu-MG e São Gotardo-MG para a concentração de proteína solúvel em KOH (PS). Genótipos: 1- Cs02133; 2- Cs02449; 3- Cs02544; 4- Cs02564; 5- Cs02712; 6- Cs02731; 7- Cs02760; 8- Cs02884; 9- Cs02936; 10- Cs01736; 11- Luziania; 12- Monarca; 13- Msoy8001; 14- Splendor; 15- Carrera; 16- Cs01074; 17- Cs02020; 18- Cs02054; 19- Cs02302; 20- Cs02353; 21- Cs020521; 22- Cs02529; 23- Cs9877; 24- Emgopa-316 e 25- Vencedora.



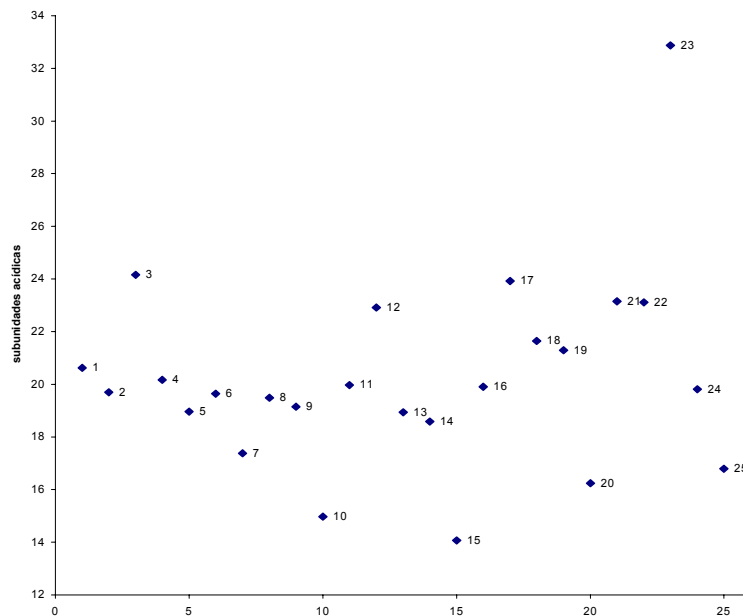
**Figura 5-** Dispersão gráfica dos 25 genótipos de soja cultivados nos municípios de Bom Jesus de Goiás-GO, Paracatu-MG e São Gotardo-MG para a concentração da subunidade  $\alpha'$ . Genótipos: 1- Cs02133; 2- Cs02449; 3- Cs02544; 4- Cs02564; 5- Cs02712; 6- Cs02731; 7- Cs02760; 8- Cs02884; 9- Cs02936; 10- Cs01736; 11- Luziania; 12- Monarca; 13- Msoy8001; 14- Splendor; 15- Carrera; 16- Cs01074; 17- Cs02020; 18- Cs02054; 19- Cs02302; 20- Cs02353; 21- Cs020521; 22- Cs02529; 23- Cs9877; 24- Emgopa-316 e 25- Vencedora.



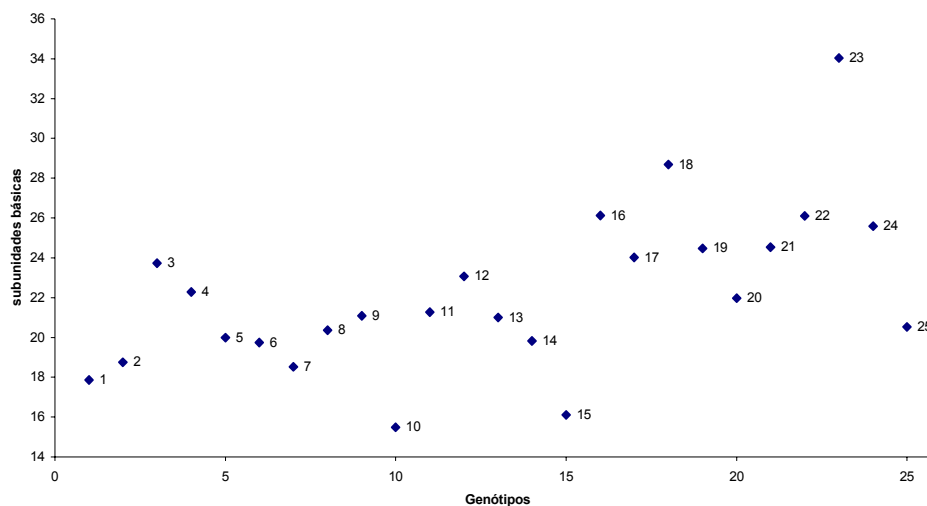
**Figura 6-** Dispersão gráfica dos 25 genótipos de soja cultivados nos municípios de Bom Jesus de Goiás-GO, Paracatu-MG e São Gotardo-MG para a concentração da subunidade  $\alpha$ . Genótipos: 1- Cs02133; 2- Cs02449; 3- Cs02544; 4- Cs02564; 5- Cs02712; 6- Cs02731; 7- Cs02760; 8- Cs02884; 9- Cs02936; 10- Cs01736; 11- Luziania; 12- Monarca; 13- Msoy8001; 14- Splendor; 15- Carrera; 16- Cs01074; 17- Cs02020; 18- Cs02054; 19- Cs02302; 20- Cs02353; 21- Cs020521; 22- Cs02529; 23- Cs9877; 24- Emgopa-316 e 25- Vencedora.



**Figura 7-** Dispersão gráfica dos 25 genótipos de soja cultivados nos municípios de Bom Jesus de Goiás-GO, Paracatu-MG e São Gotardo-MG para a concentração da subunidade  $\beta$ . Genótipos: 1- Cs02133; 2- Cs02449; 3- Cs02544; 4- Cs02564; 5- Cs02712; 6- Cs02731; 7- Cs02760; 8- Cs02884; 9- Cs02936; 10- Cs01736; 11- Luziania; 12- Monarca; 13- Ms0y8001; 14- Splendor; 15- Carrera; 16- Cs01074; 17- Cs02020; 18- Cs02054; 19- Cs02302; 20- Cs02353; 21- Cs020521; 22- Cs02529; 23- Cs9877; 24- Emgopa-316 e 25- Vencedora.



**Figura 8-** Dispersão gráfica dos 25 genótipos de soja cultivados nos municípios de Bom Jesus de Goiás-GO, Paracatu-MG e São Gotardo-MG para a concentração das subunidades acídicas. Genótipos: 1- Cs02133; 2- Cs02449; 3- Cs02544; 4- Cs02564; 5- Cs02712; 6- Cs02731; 7- Cs02760; 8- Cs02884; 9- Cs02936; 10- Cs01736; 11- Luziania; 12- Monarca; 13- Ms0y8001; 14- Splendor; 15- Carrera; 16- Cs01074; 17- Cs02020; 18- Cs02054; 19- Cs02302; 20- Cs02353; 21- Cs020521; 22- Cs02529; 23- Cs9877; 24- Emgopa-316 e 25- Vencedora.



**Figura 9.** Dispersão gráfica dos 25 genótipos de soja cultivados nos municípios de Bom Jesus de Goiás-GO, Paracatu-MG e São Gotardo-MG para a concentração das subunidades básicas. Genótipos: 1- Cs02133; 2- Cs02449; 3- Cs02544; 4- Cs02564; 5- Cs02712; 6- Cs02731; 7- Cs02760; 8- Cs02884; 9- Cs02936; 10- Cs01736; 11- Luziania; 12- Monarca; 13- Msoy8001; 14- Splendor; 15- Carrera; 16- Cs01074; 17- Cs02020; 18- Cs02054; 19- Cs02302; 20- Cs02353; 21- Cs020521; 22- Cs02529; 23- Cs9877; 24- Emgopa-316 e 25- Vencedora.

De posse dos dados apresentados nas Figuras 1 a 9 realizou-se uma seleção de 20% dos genótipos com as maiores médias para cada uma das características avaliadas (Tabela 19). Os genótipos selecionados como acréscimo são os que apresentam as maiores médias para a referida característica. Essas informações dos genótipos que apresentam as maiores médias poderão ser usadas em programas de melhoramento para direcionar cruzamentos específicos visando à obtenção de linhagens de soja com concentrações ainda maiores das características avaliadas.

Pelos resultados apresentados na Tabela 19, considerando-se o desempenho médio de cada genótipo no conjunto de ambientes, podem-se selecionar materiais para fins específicos.

Grãos de soja com a finalidade de produção de farinha de soja ativa para serem misturados à farinha de trigo devem conter maiores atividades específicas das enzimas lipoxigenases, principalmente de LOX 3. Os cinco genótipos mais indicados para esta finalidade são Cs02449, Cs02936, Cs02020, Cs02054 e Luziania (Tabela 19).

Tabela 19 - Genótipos selecionados com intensidade de seleção de 20 % nos municípios de Bom Jesus de Goiás-GO, Paracatu-MG e São Gotardo-MG para acréscimo das características atividade específica de lipoxigenase 1 (LOX 1) e de lipoxigenase 3 (LOX 3), concentração de proteína (PT), concentração de proteína solúvel em KOH (PS), concentração das subunidades das proteínas de reserva glicinina (acídicas e básicas) e  $\beta$ -conglucina ( $\alpha'$ ,  $\alpha$  e  $\beta$ )

LOX 1	LOX 3	PT	PS	$\alpha'$	$\alpha$	$\beta$	acídicas	básicas
10	2	19	23	18	23	23	23	23
11	9	14	16	23	17	4	3	18
9	17	12	24	24	22	11	17	16
20	18	11	17	17	16	22	21	22
21	11	4	25	21	19	9	22	24

Genótipos: 1- Cs02133; 2- Cs02449; 3- Cs02544; 4- Cs02564; 5- Cs02712; 6- Cs02731; 7- Cs02760; 8- Cs02884; 9- Cs02936; 10- Cs01736; 11- Luziania; 12- Monarca; 13- Msoy8001; 14- Splendor; 15- Carrera; 16- Cs01074; 17- Cs02020; 18- Cs02054; 19- Cs02302; 20- Cs02353; 21- Cs020521; 22- Cs02529; 23- Cs9877; 24- Emgopa-316 e 25- Vencedora.

Se há o interesse por alta concentração de proteína, os genótipos mais indicados são Cs02302, Splendor, Monarca, Luziania e Cs02564 (Tabela 19).

Produtos protéicos de soja, tais como farelo, são submetidos a tratamentos térmicos para inativação de fatores antinutricionais (MENDES et al., 2004; RUNHO, 2006) para então serem usados como alimentos. Devido a esses tratamentos, verifica-se uma queda na solubilidade da proteína e, conseqüentemente, uma queda na disponibilidade da mesma (RUNHO, 2006). Genótipos de soja com alta concentração de proteína solúvel em KOH, tais como os genótipos Cs9877, Cs01074, Emgopa-316, Cs02020 e Vencedora são os mais indicados para serem usados na produção desses tipos de produtos.

De posse dos dados apresentados na Tabela 19, referente aos genótipos selecionados com intensidade de seleção de 20%, realizou-se uma seleção de genótipos que estiveram mais freqüentes entre as maiores médias para pares de características, ou seja, uma verificação de coincidências entre genótipos (Tabela 20).

Tabela 20 - Coincidências de genótipos selecionados com intensidade de seleção de 20 % nos municípios de Bom Jesus de Goiás-GO, Paracatu-MG e São Gotardo-MG para o acréscimo das características atividade específica de lipoxigenase 1 (LOX 1) e de lipoxigenase 3 (LOX 3), concentração de proteína (PT), concentração de proteína solúvel em KOH (PS), concentração das subunidades das proteínas de reserva glicínica (ácidas e básicas) e  $\beta$ -conglucínica ( $\alpha'$ ,  $\alpha$  e  $\beta$ )

	LOX 3	PT	PS	$\alpha'$	$\alpha$	$\beta$	Ácidas	Básicas
LOX 1	(9,11)	(11)	(-)	(21)	(-)	(9, 11)	(21)	(-)
LOX 3		(11)	(17)	(17, 18)	(17)	(9, 11)	(11)	(18)
PT			(-)	(-)	(19)	(4, 11)	(-)	(-)
PS				(17, 23, 24)	(16, 17, 23)	(23)	(17, 23)	(16, 23, 24)
$\alpha'$					(17, 23)	(23)	(17, 21, 23)	(18, 23, 24)
$\alpha$						(22, 23)	(17, 22, 23)	(16,22, 23)
$\beta$							(22, 23)	(22, 23)
Ácidas								(22, 23)

Genótipos: 1- Cs02133; 2- Cs02449; 3- Cs02544; 4- Cs02564; 5- Cs02712; 6- Cs02731; 7- Cs02760; 8- Cs02884; 9- Cs02936; 10- Cs01736; 11- Luziania; 12- Monarca; 13- Msoy8001; 14- Splendor; 15- Carrera; 16- Cs01074; 17- Cs02020; 18- Cs02054; 19- Cs02302; 20- Cs02353; 21- Cs020521; 22- Cs02529; 23- Cs9877; 24- Emgopa-316 e 25- Vencedora.

Analisando-se os dados apresentados na Tabela 20 observa-se que alguns genótipos aparecem mais freqüentemente entre as maiores médias para as características estudadas. Os genótipos Luziania e Cs9877 aparecem diversas vezes entre as coincidências para acréscimo das características avaliadas.

Segundo os dados apresentados na Tabela 20, os genótipos Cs02936 e Luziania são coincidentes entre os que possuem as mais elevadas atividades específicas de lipoxigenases 1 e 3, podendo ser empregados na produção de farinha de soja enzimaticamente ativa para promover branqueamento de farinha de trigo (KLAJN et al., 1993). Essas observações podem ser confirmadas pelas Figuras 1 e 2, apresentando para LOX 1, respectivamente, a segunda e terceira maiores médias, e para LOX 3, respectivamente, a quinta e segunda maiores médias.

Na Tabela 20 também estão indicados os vários genótipos coincidentes entre a concentração de proteína solúvel em KOH e as concentrações das subunidades das proteínas de reserva glicínica (acídicas e básicas) e  $\beta$ -conglícinina ( $\alpha'$ ,  $\alpha$  e  $\beta$ ). O genótipo Cs9877 é coincidente entre os que possuem as mais elevadas concentração de proteína solúvel em KOH e das subunidades  $\alpha'$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ , acídicas e básicas, o que pode ser confirmado pelas Figuras 4, 5, 6, 7, 8 e 9, apresentando o segundo maior valor para concentração da subunidade  $\alpha'$  e o maior valor para a concentração de proteína solúvel e as outras subunidades. Essas observações indicam uma relação entre as concentrações das proteínas  $\beta$ -conglícinina e glicínica com a concentração de proteína solúvel em KOH.

## 5. CONCLUSÕES

O presente trabalho foi desenvolvido com a finalidade de avaliar a interação genótipo x ambiente para as características de qualidade do grão de soja (1) atividade específica de lipoxigenases 1 e 3, (2) concentração de proteína, (3) concentração de proteína solúvel em KOH, (4) concentrações das subunidades da proteína de reserva  $\beta$ -conglucina ( $\alpha'$ ,  $\alpha$  e  $\beta$ ) e (5) concentrações das subunidades da proteína de reserva glicina (ácidas e básicas), bem como estimar as correlações entre as características nos materiais genéticos e avaliar o grau de similaridade entre os ambientes.

Para isto, foram avaliados 25 genótipos de soja, cultivados nas estações experimentais da COOPADAP situadas nos municípios de Bom Jesus de Goiás-GO, Paracatu-MG, São Gotardo-MG e Rio Paranaíba-MG, no ano agrícola 2005/2006. Os experimentos foram executados em blocos casualizados, com três repetições.

Os resultados obtidos permitiram as seguintes conclusões:

- Verificou-se interação genótipo x ambiente para concentração de proteína, concentração de proteína solúvel em KOH e concentração da subunidade  $\alpha'$  ( $\beta$ -conglucina).
- Verificou-se efeitos de genótipo e de ambiente para atividade específica de lipoxigenase 1 (LOX 1) e 3 (LOX 3), concentração da subunidade  $\beta$  ( $\beta$ -conglucina) e subunidades ácidas e básicas (glicina).
- Os estudos de comparação entre médias para verificar o efeito de cada genótipo no conjunto de ambientes permitiram concluir que os genótipos Cs02020, Cs02054 e Cs02529 se destacaram em relação aos demais apresentando um desempenho superior para atividade específica de LOX 1 e 3, concentração da subunidade  $\beta$  ( $\beta$ -conglucina) e das subunidades básicas (glicina) e que para as concentrações da subunidade  $\alpha$  ( $\beta$ -conglucina) e das subunidades ácidas (glicina) não foram observadas médias estatisticamente diferentes entre si.
- Os estudos de comparação entre médias para verificar o efeito de cada ambiente no conjunto de genótipos apontaram o município de São Gotardo-MG como o que apresentou as maiores médias para as atividades específicas de LOX 1 e 3 e concentração das subunidades ácidas, básicas e  $\beta$ .
- Os estudos da interação genótipo x ambiente permitiram concluir que os genótipos Cs02884, Luziania, Msoy8001, Cs02529 e Vencedora se destacaram em relação aos demais apresentando um desempenho superior para

concentração de proteína, concentração de proteína solúvel e concentração da subunidade  $\alpha'$  em todos os ambientes avaliados.

- Observou-se correlação entre as atividades específicas de LOX 1 e 3, não existindo um padrão de resposta para as correlações envolvendo concentração de proteína e subunidades das proteínas de reserva glicinina (ácidas e básicas) e  $\beta$ -conglucina ( $\alpha'$ ,  $\alpha$  e  $\beta$ ), em avaliações empregando diferentes genótipos de soja cultivados em ambientes também diferentes, concluindo-se não ser possível encontrar correlações significativas para todos os caracteres avaliados.
- Verificou-se que os ambientes que apresentaram maior grau de similaridade para atividade específica de LOX 1 foram Paracatu-MG e Rio Paranaíba-MG e de LOX 3 foram Bom Jesus de Goiás-GO e São Gotardo-MG; para concentração de proteína e para concentração de proteína solúvel em KOH foram Paracatu-MG e São Gotardo-MG; para concentração da subunidade  $\beta$  foram Bom Jesus de Goiás-GO e Paracatu-MG e não foram encontradas correlações entre os ambientes para as concentrações das subunidades  $\alpha'$ ,  $\alpha$  e básicas.
- Verificou-se que os genótipos que estiveram mais freqüentes entre as maiores médias para pares de características foram Cs02936 e Luziania para atividades específicas de LOX 1 e 3 e Cs9877 para concentração de proteína solúvel em KOH e subunidades  $\alpha'$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ , ácidas e básicas.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIOVE, 2006. Disponível em: <<http://www.abiove.com.br/estatis.html>>. Acesso em: 02 de julho de 2006.
- ANDERSON-HAFERMANN, J.C., ZHANG, Y., PARSONS, C.M. Effect of heating on nutritional quality of conventional and Kunitz trypsin inhibitor-free soybeans. **Poultry Science**, v.71 p.1700-1709, 1992.
- ARABA, M.; DALE, N.M. Evaluation of protein solubility as an indicator of overprocessing of soybean meal. **Poultry Science**, v.69, p.76-82, 1990.
- ARABA, M.; DALE, N.M. Evaluation of protein solubility as an indicator of underprocessing of soybean meal. **Poultry Science**, v.69, p.1749-1752, 1989.
- AXELROD, B., CHEESBROUGH, T.M., LAASKO, S. Lipoxygenase from soybean. **Methods Enzymology**, n.71, p.441-451, 1981.
- AZEVEDO, V.H. **Estratificação Ambiental, Adaptabilidade e Estabilidade de produção de Grãos de Genótipos de Soja (*Glycine max* (L.) Merrill) nos Estados de Minas Gerais, Mato Grosso e São Paulo**. Viçosa, Minas Gerais, UFV, 140p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, 2004.
- BARROS, E. G., MOREIRA, M. A. & FONTES, E. P. B. Atividade de lipoxigenases L1 e L3 em cultivares comerciais de soja. **Arquivos de Biologia e Tecnologia** v.27, n.3, p.381-386, 1984.
- BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. Editora UFV. Viçosa-MG. Terceira edição. 500p., 2001.
- BURTON, J.W. Quantitative Genetics: results relevant to soybean breeding. **In: Soybeans: Improvement. Production and Uses**, WILCOX, J.R., Ed.; American Society of Agronomy: Madison, WI, p. 211-247, 1987.
- CHAVES, L.J. Interação genótipo com ambientes. In: NASS, L.L., VALOIS, A.C.C., MELO, I.S. de., VALADARES-INGLIS, M.C. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, p.673-713, 2001.
- COATES, J.B., MEDEIROS, J.S. THANH, V.H., NIELSEN, N.C. Characterization of the subunits of  $\beta$ -conglycinin. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.243, n.1, p.184-194, 1985.
- CRUZ, C.D. **Programa genes: aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa, MG, UFV, 648p., 2001.
- CRUZ, C.D., REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Segunda edição. Editora UFV. Viçosa, MG. 390p., 2001.
- CRUZ, C.D., REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Editora UFV. Viçosa, MG. 390p., 1997.

- EBERHART, S.A., RUSSELL, W.A. Stability parameters for comparing varieties. **Crop Science**, v.6, n.1, p.36-40, 1966.
- EMBRAPA SOJA, 2006. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br>>. Acesso em: 11 de janeiro de 2006.
- FALCONER, D.S. **Introdução à genética quantitativa**. Tradução de M.A. SILVA e J.C. SILVA, Viçosa, MG: UFV, Imp. Univ., 279p.,1987.
- FEHR, W.R., HOECK, J.A., JOHNSON, S.L., MURPHY, P.A., NOTT, J.D., PADILLA, G.I., WELK, G.A. Genotype and environment influence on protein components of soybean. **Crop Science**. V. 43, p.511-514, 2003.
- GONDIM, T.C. de O. **Qualidade Fisiológica de Sementes de Soja com Presença ou Ausência de Lipoxigenases, em Diferentes Épocas de Colheita**. Viçosa, Minas Gerais, UFV, 61p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2001.
- HARADA, K., TOYOKAMA, Y., KITAMURA, K. Genetic analysis of the most acidic 11S globulin subunit and related characters in soybean seeds. **Japan Journal of Breeding**, v.33, p.23-30, 1983.
- HILDEBRAND, D.F. Lipoxigenases. **Physiologia Plantarum**, v.76, p.249-253, 1989.
- HILDEBRAND, D.F., HAMILTON-KEMP, T.R., LEGG, C.S., BOOKJANS, G. Plant lipoxigenase: occurrence, properties and possible functions. **Current Topics in Plant Biochemistry and Physiology**, n.7, p.201-219, 1988.
- HILDEBRAND, D.F.; KITO M. Role of lipoxigenases in soybean seed protein quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.32, p.815-819, 1984.
- HILDEBRAND, D.F.; HYMOWITZ, T. Two soybean genotypes lacking lipoxigenase-1. **Journal of the American Oil Chemistry's Society**, v.58, n.5, p.583-586, 1981.
- HILL, J.E., BREIDENBACH, R.W. Protein of soybean seeds. II. Accumulation of the major protein components during seed development and maturation. **Plant Physiology**, v.53, p.747-751, 1974.
- HIRANO, H., KAGAWA, H., KAMATA, Y., YAMAUCHI, F. Structural homology among the major 7S globulin subunits of soybean seed storage proteins. **Phytochemistry**, v.26, n.1, p.41-45, 1987.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3.ed. São Paulo, 1985. v.1. 533p.
- KINSELLA, J.E. Functional properties of soy proteins. **Journal American of Oil Chemical Society**, v.56, p.242-258, 1979.
- KITAMURA, K. Genetic improvement of nutritional and food processing quality in soybean. **Japan Agricultural Research Quarterly**, v.29, n.1, p.1-8, 1995.

- KITAMURA, K.; DAVIES, C.S.; KAIZUMA, N.; NIELSON, N.C. Genetic analysis of a null-allele for Lipoxygenase-3 in soybean seeds. **Crop Science**, v.23, p.924-927, 1984.
- 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, n.5, p.924-927, 1983.
- KITAMURA, K., KAIZUMA, N. Mutant strain with low level of subunits of 7S globulin in soybean (*Glycine max* Merr.) seed. **Japanese Journal of Breeding**, v.31, p.353-359, 1981.
- KLAJN, V.M.; SEDIYAMA, C.S.; MOREIRA, M.A. Efeito de lipoxigenases da soja na cooxidação do caroteno e no branqueamento de farinha de trigo. **Revista Ceres**, v.40, n. 229, p.223-229, 1993.
- KLAJN, V.M. **Avaliação de lipoxigenases em soja pela cooxidação do  $\beta$ -caroteno e ação destas enzimas no branqueamento de farinha de trigo.** Viçosa, Minas Gerais, UFV, 47p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, 1991.
- KOSHIYAMA, I. Storage proteins of soybean. *In: Soybean: Improvement, production and uses.* Rd., Madison, WI, USA, 2<sup>nd</sup> ed., Agronomy monograph, n.16, p. 427-450, 1987.
- KUMAR, V., RANI, A., SOLANKI, S., HUSSAIN, S.M. Influence of growing environment on the biochemical composition and physical characteristics of soybean seed. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, p.188-195, 2006a.
- KUMAR, V.; RANI, A.; PANDEY, V.; CHAUHAN, G.S. Changes in lipoxygenase isozymes and trypsin inhibitor activity in soybean during germination at different temperatures. **Food Chemistry**, v.99, p.563-568, 2006b.
- KUMAR, V.; RANI, A.; TINDWANI, C., JAIN, M. Lipoxygenase isozymes and trypsin inhibitor activities in soybean as influenced by growing location. **Food Chemistry**, v.81, p.79-83, 2003.
- KWANYUEN, P., PANTALONE, V.R., BURTON, J.W., WILSON, R.F. A new approach to genetic alteration of soybean protein composition and quality. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v.74, n.8, p.983-987, 1997.
- LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v.227, p. 680-685, 1970.
- LIU, K. **Soybeans – Chemistry, technology and utilization.** New York: Chapman Hall, 532p. 1997.
- MACK, A.J.; PETERMAN, T.K.; SIEDOW, J.N. Lipoxygenase isoenzymes in higher plants: biochemical properties and physiological role. **Current Topics in Biology and Medicine Research**, v.13, p.127-154, 1987.

- MAURO, A.O. **Adaptabilidade, estabilidade e ganho genético com o processo seletivo em soja (*Glycine max* (L) Merrill) em Ponta Porã, Mato Grosso de Sul.** Viçosa, Minas Gerais, UFV, 192p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, 1991.
- MENDES, W.S.; SILVA, I.J.; FONTES, D.O.; RODRIGUEZ, N.M.; MARINHO, P.C.; SILVA, F.O.; AROUCA, C.L.C.; SILVA, F.O.C. Composição química e valor nutritivo da soja crua e submetida a diferentes processamentos térmicos para suínos em crescimento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.2, 2004.
- MONTEIRO, M.R.P.; COSTA, N.M.B.; OLIVEIRA, M.G.A.; PIRES, C.V.; MOREIRA, M.A. Avaliação da digestibilidade protéica de genótipos de soja com ausência e presença do inibidor de tripsina Kunitz e lipoxigenases. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.6, n.1, p.99-107, 2003.
- MORAES, R.M.A. **Introgressão de Alelos Para Alta concentração de Proteína em Soja Assistida por Marcadores Moleculares.** Viçosa, Minas Gerais, UFV, 133p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G.; PIOVESAN, N. D.; SCHUSTER, I.; OLIVEIRA, M. G. A.; SEDIYAMA, C. S. Programa de melhoramento genético da qualidade da soja para a agroindústria em desenvolvimento na UFV. *In: Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas*, 1., 2001, Goiânia. Anais...Goiânia: Embrapa, 2001. 1 CD.
- MOREIRA, M.A. Programa de melhoramento genético da qualidade de óleo e proteína da soja desenvolvida na UFV. *In: Congresso Brasileiro de Soja*, 1999, Londrina, PR, Anais...EMBRAPA-SPI, p.99-104,1999.
- MOREIRA, M.A., HERMADSON, M., LARKINS, B.A., NIELSEN, N.C. Comparison of the primary structure of the acidic polypeptides of glycinin. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.210, n.2, p.636-642, 1981.
- MOREIRA, M.A., HERMADSON, M., LARKINS, B.A., NIELSEN, N.C. Partial characterization of the acidic and basic polypeptides of glycinin. **Journal of Biological Chemistry**, v.254, p.9921-9926, 1979.
- NIELSEN, N.C. soybean seed composition. *In: VERNIA, D.P.S. & SHOEMAKER, R.C. (Eds.). Soybean genetics, molecular biology and biotechnology.* Wallingford: Cab International, p.127-163, 1996.
- OGAWA, T., TAYAMA, E., KITAMURA, K., KAIZUMA, N. Genetic improvement of seed storage protein using three variant alleles of 7S globulin subunits in soybean (*Glycine max* L.). **Japanese Journal of Breeding**, v.39, p.137-147, 1989.
- OLIVEIRA, D. A., PIOVESAN, N. D., MORAES, R. M. A. ROCHEBOIS, G. B., OLIVEIRA, M. G. A., BARROS, E. G., MOREIRA, M. A. Identification of the tree

- genotypic classes for soybean lipoxygenases 1 and 3 based on enzymatic activity. **Biotechnology Techniques**, 12:71-74, 1998.
- PETERMAN T.K.; SIEDOW, J.N. Immunological comparison of lipoxygenase isozyme -1 and -2 with soybean seedling lipoxygenases. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.238, n.2, p.467-483, 1985.
- PIOVESAN, N.D. **Aplicação de Cruzamentos Dialélicos no Melhoramento Genético da concentração Protéico em Soja**. Viçosa, Minas Gerais, UFV, 91p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, 2000.
- RACKIS, J.J.; SESSA, D.J.; HONIG, D.H. Flavor problems of vegetable food proteins. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 56, p. 262-271, 1979.
- RIBEIRO Jr., J.I. **Análises Estatísticas no SAEG**. Viçosa, MG, UFV, 302p., 2001.
- RUNHO, R.C., 2006. Farelo de soja: Processamento e Qualidade. Disponível em: <<http://www.polinutri.com.br>>. Acesso em: 05 de janeiro de 2006.
- SANZ, L.C.; PÉREZ, A.G.; OLÍAS, J.M. La lipoxigenasa en el reino vegetal. I. Propiedades. **Información**, v. 43, n. 4, 1992.
- SEDIYAMA , T., TEIXEIRA, R.C., REIS, M.S. Melhoramento de soja. *In*: BORÉM, A. (Ed) **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa – MG, p.487-534, 1999.
- SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos**. São Paulo: Varela, 517p. 1996.
- SHIBATA, D., STECZKO, J., DIXON, J.E., HERMODSON, M.J., YAZDANPARASR, R., AXELROD, B. Primary structure of soybean lipoxygenase-1. **The Journal of Biological Chemistry**, n.262, p.10080-10085, 1987.
- SKRZYPCZAK, J. E.; AMZEL, L. M.; KROA, B. A. & FUNK Jr, M. O. Structure of soybean lipoxygenase L3 and a comparison with its L1 isoenzyme. **Proteins: Structure, Function and Genetics**, v.29, n.1, p.15-31, 1997.
- SMITH, H., GRIERSON, D. Seed maturation and deposition of storage proteins. *In*: **The molecular biology of plant development**, SMITH, H., GRIERSON, D. (ed) Botanical monograph, University of California Press, Berkeley, v.18, p.306-336, 1982.
- SOARES, T.C.B., PIOVESAN, N.D., SCHUSTER, I., CRUZ, C.D., BARROS, E.G., MOREIRA, M.A. Quantitative genetic analysis of storage proteins in soybean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 4, p.127-134, 2004.
- STASWISCK, P.E.; NIELSEN, N.C. Characterization of a soybean cultivar lacking certain glycinin subunits. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.223, n.1, p.1-8, 1983.

- STEEL, R.G.D., TORRIE, J.H. **Principles and Procedures of Statistics**. 2.ed. New York: McGraw-Hill Book Company, 633p.,1980.
- TAI, G.C.C. Genotypic stability analysis and its application to potato regional trials. **Crop Science**, Medison, v.11, n.2, p.184-190, 1971.
- TEIXEIRA, A.I. **Herdabilidade e correlação entre concentrações de proteína em soja avaliadas por diferentes metodologias**. Viçosa, MG: UFV, 2003. 53p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- VELOSO, J.A.F.; MEDEIROS, S.L.S.; AROUCA, C.L.C.; RODRIGUEZ, N.M.; SALIBA, E.O.S.; OLIVEIRA, S.G. Composição química, avaliação físico-química e nutricional e efeito da expansão do milho e do farelo de soja para suínos em crescimento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.5, 2005.
- VIEIRA, P.F.M.J., **Adaptabilidade, Estabilidade, Determinação Genotípica e Correlações entre Características Agronômicas de Soja em Goiás**. Viçosa, Minas Gerais, UFV, 75p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- VIEIRA, A.A., OLIVEIRA, M.G.A., JOSÉ, I.C., PIOVESAN, N.D., REZENDE, S.T., MOREIRA, M.A., BARROS, E.G. Biochemical evaluation of lipoxygenase pathway of soybean plants submitted to wounding. **Revista Brasileira de Fisiologia vegetal**, v.13, n.1, p.05-12, 2002.
- ZOUGARI, A., GUI, S., PLANCHON, C. Genotypic lipoxygenase variation in soybean seeds and response to nitrogen nutrition. **Plant Breeding**, v.114, n.4, p.313-316, 1995.
- WILCOX, J.R., SHIBLES, R.M. Interrelationships among seed quality attributes in soybean. **Crop Science**, v.41, p.11-14, 2001.
- WOLF, W.J., BABCOCK, T.E. and SMITH, A.K. Ultracentrifugal differences in soybean protein composition. **Nature**, v.191, p.1395-1396, 1961.
- YAKLICH, R.W.  $\beta$ -Conglycinin and glycinin in high-protein soybean seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.729-735, 2001.