

**PEDRO IVO VIEIRA GOOD GOD**

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA E CAPACIDADE COMBINATÓRIA DE  
CULTIVARES DE SOJA PARA TEORES DE ÁCIDOS GRAXOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Magister Scientiae*

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2004**

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

T

G646d  
2004

Good God, Pedro Ivo Vieira, 1977-

    Divergência genética e capacidade combinatória de  
cultivares de soja para teores de ácidos graxos / Pedro Ivo  
Vieira Good God. – Viçosa : UFV, 2004.  
    xi, 69f. : il. ; 29cm.

    Orientador: Everaldo Gonçalves de Barros  
    Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Viçosa.

    Referências bibliográficas: f. 64-69.

    1. Soja - Melhoramento genético. 2. Soja - Teor de  
ácidos graxos. 3. Genética quantitativa. I. Universidade  
Federal de Viçosa. II. Título.

    CDD 20.ed. 635.6553

PEDRO IVO VIEIRA GOOD GOD

DIVERGÊNCIA GENÉTICA E CAPACIDADE COMBINATÓRIA DE  
CULTIVARES DE SOJA PARA TEORES DE ÁCIDOS GRAXOS

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Magister Scientiae*

APROVADA EM: 04 de agosto de 2004.

---

Prof. Cosme Damião Cruz  
(Conselheiro)

---

Prof. Maurílio Alves Moreira  
(Conselheiro)

---

Prof. Valterley Soares Rocha

---

Dra. Rita Maria Alves de Moraes

---

Prof. Everaldo Gonçalves de Barros  
(Orientador)

A Deus.

À minha mãe, Sueli Vieira Good God.

Ao meu pai, Hieroises Maria Good God.

Aos meus irmãos Diogo e Maria.

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, sobretudo.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Curso de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, pela oportunidade sem igual na realização do curso.

Ao Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO), pela ótima infra-estrutura para a realização dos trabalhos científicos.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Professor Everaldo Gonçalves de Barros, pela orientação, desde os tempos de graduação, pela extrema paciência, e, acima de tudo, pela amizade e respeito sempre demonstrados no decorrer dos anos.

Ao Professor Cosme Damião Cruz, pelas sugestões imprescindíveis nas análises biométricas e na discussão dos resultados.

Ao Professor Maurílio Alves Moreira, pela receptividade sempre presente, pela colaboração e incentivo na execução deste trabalho.

Aos demais professores do Curso de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, pela convivência e paciência, pelos ensinamentos e pela dedicação sempre externadas.

Ao Professor Ronan Xavier Corrêa, pelos primeiros e essenciais passos ensinados na árdua carreira de pesquisador.

Ao Newton, pelas sugestões iniciais do trabalho, sem as quais nada seria possível.

À Inês, pelos momentos agradáveis de convivência no laboratório, pelo apoio e pela amizade.

À Rita, por dirimir as dúvidas nas horas certas, pela colaboração, pela amizade e convivência.

Aos estagiários Edgard e Rafael, pela valiosa contribuição aos trabalhos desenvolvidos.

Aos companheiros da casa de apoio, José Carlos e Marcos pela ajuda fundamental na condução dos experimentos.

Ao Cupertino, pela destreza na realização dos cruzamentos.

Ao Jander, Naldo e João Paulo pela disponibilidade e apoio nos momentos vitais e pela descontração no trabalho.

Aos colegas do Biomol: Márcia, Márcia Flores, Luciano, Francisco, Davi, Vagner, Cassiana, Taís, Mateus, Vilmar, Demerson, Thiago, Marcos, Fernanda, Polyane, Fábio e Klever, pela convivência sempre agradável.

Aos colegas do Laboratório de Análises Bioquímicas: Jander, Ranielle, Josie e Daniel Falkoski pela presença sempre agradável.

Aos colegas Aloízio, Gláucia, Marlene e José Fausto, pela convivência e ajuda imprescindível.

A todos os demais colegas do BIOAGRO, pelos encontros fortuitos e conversas nas escadas.

Aos amigos da República do A, Anderson Pilon e José Barbosa, pela convivência diária, pela amizade irrequieta, pelas críticas e sugestões na concepção deste trabalho.

Aos freqüentadores da República do A, Arlindo, Bilica, Luciana, Pedro, Toninho, Alessandro, Neir, Ney, Alisson e Saci pelas conversas e descontração necessárias.

À Liliane Evangelista Visôto, pelo amor e carinho dedicados, pelo incentivo e ajuda disponíveis, sem os quais não passaria.

A todos os demais que colaboraram e contribuíram para o êxito deste trabalho.

## **BIOGRAFIA**

PEDRO IVO VIEIRA GOOD GOD, filho de Sueli Vieira Good God e Hieroises Maria Good God, nasceu em 16 de agosto de 1977, na cidade de Belo Horizonte, estado de Minas Gerais.

Em setembro de 2002, graduou-se no curso de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa, na cidade de Viçosa, Minas Gerais.

Em setembro de 2002, iniciou o curso de Mestrado em Genética e Melhoramento, submetendo-se à defesa de tese em 04 de agosto de 2004.

## CONTEÚDO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO .....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	06
2.1. Biossíntese de Ácidos Graxos .....	06
2.2. Composição e Qualidade do Óleo.....	14
2.3. Melhoramento Genético para Teores de Ácidos Graxos.....	13
2.4. Divergência Genética por Meio de Marcadores Moleculares SSR	16
3. METODOLOGIA.....	17
3.1. Material Genético.....	17
3.2. Procedimentos Experimentais.....	17
3.3. Divergência Genética e Identificação de Híbridos.....	18
3.4. Análise de Ácidos Graxos.....	19
3.5. Análises Estatísticas.....	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
4.1. Divergência Genética entre Genótipos Contrastantes para os Teores de Ácidos Graxos.....	27
4.2. Análise Dialélica de Pais, Sementes F <sub>1</sub> e Recíprocos.....	39
5. CONCLUSÕES.....	59
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62

## RESUMO

GOOD-GOD, Pedro Ivo Vieira, M. S., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2004. **Divergência genética e capacidade combinatória de cultivares de soja para teores de ácidos graxos.** Orientador: Everaldo Gonçalves de Barros. Conselheiros: Cosme Damião Cruz e Maurílio Alves Moreira.

A obtenção de genótipos com teores modificados de ácidos graxos tem sido, marcadamente, um dos principais objetivos em programas de melhoramento de soja. A redução do teor de ácido linolênico, com o concomitante aumento do teor de ácido oléico, é considerada como a principal estratégia para tais programas, tendo em vista a obtenção de ganhos na qualidade do óleo. Não obstante, pouco progresso foi alcançado por meio de métodos de melhoramento convencionais, levando os melhoristas a optarem por diferentes tecnologias, como o uso de mutação induzida e a obtenção de variedades transgênicas. O entendimento e a quantificação do tipo de ação gênica é de fundamental importância para a obtenção de ganhos genéticos e, nesse sentido, pouco se conhece com relação aos teores de ácidos graxos. Com base em sete genótipos de soja com teores diferenciados de ácidos graxos, objetivou-se no presente estudo: (1) avaliar o potencial genético dos genitores; (2) realizar estudo de divergência genética com base nos teores de ácidos graxos e por meio de marcadores microssatélites; (3) avaliar a capacidade de combinação entre os genótipos utilizados, por meio de cruzamentos dialélicos, bem como quantificar os efeitos recíprocos na análise de sementes  $F_1$ ; (4) identificar os cruzamentos de maior potencial com base nos parâmetros genéticos estimados. Os genótipos BARC-12, C2022, N85-2124 e N85-2176 apresentaram o melhor desempenho quanto ao reduzido teor de ácido linolênico ( $\leq 4,0\%$ ). Os genótipos BARC-12 e N85-2176 apresentaram o teor de ácido oléico superior a 47,0%. A divergência genética entre os progenitores calculada com base nas distâncias generalizadas de Mahalanobis, evidenciou a formação de grupos divergentes entre os genótipos avaliados. As dissimilaridades moleculares estimadas pelo complemento do coeficiente de coincidência simples foram suficientes para a determinação de grupos

coincidentes àqueles determinados pelas distâncias generalizadas de Mahalanobis, no entanto, não houve correlação entre as medidas de distâncias. Ação gênica aditiva e não-aditiva foram significativamente influentes na determinação dos teores de ácidos graxos havendo, no entanto, preponderância de ação aditiva. Efeito recíproco geral foi significativo para o teor de ácido oléico, indicando a influência de genes extranucleares de origem materna e paterna. Para o teor de ácido linolênico, verificou-se a influência da interação de genes nucleares e extranucleares. A presença de efeitos recíprocos pode indicar em maior ou menor escala a ação de efeito citoplasmático na determinação dos teores de ácidos graxos. Os progenitores N85-2124 e N85-2176 apresentaram a mais alta capacidade geral de combinação tanto para a redução do teor de ácido linolênico quanto para o aumento do ácido oléico. Tendo por base um programa de retrocruzamentos, os cruzamentos N85-2124 vs CS926602 e N85-2176 vs B412113 foram os mais recomendados, com base na média e na capacidade de combinação para o aumento do teor de ácido oléico. Da mesma maneira, os cruzamentos entre N85-2124 vs B412113 e N85-2176 vs CS92 6602 foram os mais recomendados para a obtenção de populações visando a seleção de genótipos com reduzido teor de ácido linolênico.

## ABSTRACT

GOOD-GOD, Pedro Ivo Vieira, M. S., Universidade Federal de Viçosa, August, 2004. **Genetic divergence and combining ability among soybean cultivars for fatty acid content.** Adviser: Everaldo Gonçalves de Barros. Advisory Committee Members: Cosme Damião Cruz and Maurilio Alves Moreira.

The development of cultivars with modified fatty acid contents is one of the main goals of several soybean breeding programs. Reduction on linolenic acid and increase on oleic acid contents are pursued in these programs because these modifications lead to gain on oil quality. However, little progress has been achieved through conventional breeding methods. This fact has led to the use of alternative breeding strategies such as induced mutagenesis and transgenesis. Understanding and quantifying the type of gene action is of paramount importance to obtain genetic gain. However, little is known in this aspect in relation to fatty acid content. Based on seven soybean genotypes contrasting for fatty acid composition, this work aimed at: (1) evaluating the genetic potential of the progenitors used; (2) determining the genetic divergence based on the fatty acids content and through microsatellites markers; (3) evaluating the combining capacity and reciprocal effects in F<sub>1</sub> seeds using diallel crosses; (4) identifying the crosses with greater potential based on the genetic parameters estimated. The genotypes BARC-12, C2022, N85-2124 and N85-2176 presented better performance for reduced linolenic acid content (= 4%). The genotypes BARC-12 and N85-2176 presented an oleic acid content higher than 47%. The genetic divergence among the progenitors based on the Mahalanobis generalized distances lead to the clustering of divergent groups among the genotypes analyzed. Cluster analyses based on the molecular dissimilarities measured by the complement of the simple match coefficient lead to groups which were coincident with those obtained with data determined by the Mahalanobis generalized distances, however, there were no coincidences among the distances determined by the two methods. Both additive and non-additive gene actions affected significantly the fatty acid

content, however, the additive component was the most preponderant. The general reciprocal effect was significant for oleic acid content indicating the influence of extranuclear genes on this character. The interaction between nuclear and extranuclear genes was observed on the determination of linolenic acid content. The presence of reciprocal effects are indicative of the cytoplasmic action on the determination of fatty acid content. The progenitors N85-2124 and N85-2176 showed the highest general combining capacity both for reduction of linolenic acid content and for the increase on oleic acid content. Being based on one it programs of backcross, the crosses N85-2124 vs CS926602 and N85-2176 vs B412113 were the most recommended based on the means and on the combination ability for high oleic acid content. In this way, the crosses N85-2124 vs B412113 and N85-2176 vs CS92 6602 were the most recommended for obtaining populations aiming the selection of genotypes with reduced linolenic acid content.

## 1. INTRODUÇÃO

Os Triacilgliceróis (TAG) envolvem uma classe de lipídios neutros que são formados por 3 cadeias de ácidos graxos, iguais ou diferentes, esterificadas a uma molécula de glicerol. Mais conhecidos como óleos e gorduras, os triacilgliceróis têm importante função na nutrição humana, além de serem utilizados no preparo cotidiano de alimentos. Os TAG provenientes dos óleos vegetais são a principal fonte de ácidos graxos essenciais na alimentação do homem. Ácidos graxos essenciais são aqueles que não podem ser sintetizados pelo metabolismo humano, tornando-se assim imprescindível o seu fornecimento através dos alimentos (SILVEIRA *et al.*, 1989).

Cerca de 90% do óleo vegetal produzido no mundo é destinado à alimentação humana, sendo, principalmente, comercializado na forma de margarinas, gordura vegetal hidrogenada e óleos para saladas e frituras (TÖPFER *et al.*, 1995; YADAV, 1996). Os óleos vegetais apresentam grande variação nos teores de ácidos graxos, consequência direta, portanto, da grande variação na composição dos lipídios armazenados nos tecidos de reserva em sementes de oleaginosas (TÖPFER *et al.*, 1995). A maioria dos ácidos graxos de plantas e de outros organismos tem cadeia longa, de 16 a 18 carbonos, e contém de uma a três ligações duplas em conformação *cis* (OHLROGGE e BROWSE, 1995). A composição dos ácidos graxos distribuídos nas moléculas

de lipídios determina uma série de características do óleo, como a sua qualidade para a indústria alimentícia, o valor nutricional, o sabor, o odor, além de propriedades físicas e químicas, como a maior resistência a processos de oxidação e seu ponto de fusão (SOMERVILLE & BROWSE, 1991; YADAV, 1996; WHITE *et al.*, 2003).

O óleo de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) é um dos principais óleos comestíveis utilizados no mundo. Naturalmente, há uma constante demanda do mercado por uma melhor qualidade do óleo de soja, o que implica, por sua vez, na necessidade da obtenção de uma matéria prima com atributos adequados a tais exigências. A estabilidade oxidativa do óleo de soja é determinada pela composição de ácidos graxos e pelo seu arranjo nas moléculas de TAG. Três fatores determinam o aumento da estabilidade oxidativa do óleo de soja: (1) o decréscimo na composição de ácidos graxos polinsaturados (como o ácido linoléico e linolênico) e o concomitante aumento de ácido oléico e de ácidos graxos saturados; (2) a modificação da composição de TAG com o decréscimo no conteúdo de TAG formados pelos ácidos linoléico e linolênico, e o aumento de TAG formados pelos ácidos palmíticos e esteáricos em combinação com o ácido oléico; e, (3) a modificação da estrutura do TAG, acompanhada por um acréscimo de ácidos graxos saturados e pela redução de ácidos graxos polinsaturados no carbono 2 da molécula de glicerol (NEF & LIST, 1999).

NEF *et al.* (1992) demonstraram que, em óleos de soja de diferentes composições de ácidos graxos, a peroxidação aumenta à medida que aumenta o número de duplas ligações. Da mesma maneira, DUNTON *et al.* (1951) haviam comprovado que problemas na estabilidade oxidativa do óleo de soja e o seu sabor estavam relacionados com o conteúdo de ácidos graxos polinsaturados, em especial o ácido linolênico. Em decorrência desse fato, a qualidade do óleo de soja não é ideal para fins industriais, principalmente por causa da sua baixa estabilidade oxidativa.

Variedades de soja convencionais apresentam composição média do óleo de, aproximadamente, 16% de ácidos graxos saturados, 27% de ácidos graxos monossaturados e 57% de ácidos graxos polinsaturados (FEHR & CURTISS, 2004). Dentre os ácidos saturados são encontrados os ácidos palmítico (12%) e esteárico (4%). O palmitato contém em sua molécula 16 átomos de carbono (16:0), ao passo que o estearato apresenta 18 átomos de

carbono (18:0). O ácido oléico (18:1), apresenta 18 átomos de carbono e uma insaturação em sua cadeia carbônica, e é a única forma monossaturada encontrada no óleo de soja. Os ácidos linoléico (18:2) e linolênico (18:3) perfazem as formas polinsaturadas encontradas e apresentam teores médios de 50% e 7%, respectivamente (YADAV, 1996).

Diversos programas de melhoramento têm sido conduzidos com o objetivo de melhorar a qualidade da fração óleo dos grãos de soja (HAWKINS *et al.*, 1983; MOREIRA *et al.*, 1999; FEHR & CURTISS, 2004). Em geral, a ênfase primária desses programas é dada à redução na percentagem de ácido linolênico, por este estar associado à depreciação do sabor e estabilidade do óleo (HAWKINS *et al.*, 1983). Assim, obter genótipos que apresentem teores reduzidos de ácido linolênico pode ser considerada uma boa estratégia para a melhoria da qualidade do óleo. Da mesma maneira, o aumento do teor de ácido oléico em sementes de soja também pode ser considerada como uma boa alternativa para a obtenção de ganhos na qualidade do óleo. RAHMAM *et al.* (1996a) mencionam que óleo de soja com alto conteúdo de ácido oléico, o torna menos suscetível a reações oxidativas durante o refino, armazenamento e uso no cozimento e fritura.

Devido à pequena variabilidade genética encontrada para o teor de ácido linolênico em soja, os programas de melhoramento genético inicialmente basearam-se na obtenção de acessos e de genótipos mutantes, com baixos conteúdos de ácido linolênico (HAMMOND & FEHR, 1983). Vários genótipos foram obtidos pelo tratamento químico ou físico de sementes de soja, seguido pela seleção de linhas de composição desejada (WILCOX *et al.* 1984).

Embora a herança para o teor de ácidos graxos em determinados cruzamentos seja influenciada por poucos genes de efeito maior, é relevante o efeito de genes menores e a ação do ambiente na expressão fenotípica da composição de ácidos graxos do óleo de soja. Estes fatos indicam ser a herança para esta característica de natureza quantitativa (FEHR *et al.*, 1992; GESTEIRA, 1997).

Para que possam ser desenvolvidas linhagens com composições desejáveis de ácidos graxos é necessário que se conheçam a natureza da herança e a variação desse caráter. O aumento do teor de ácido oléico associado à redução do teor de ácido linolênico, como mencionado, pode ser a

principal estratégia para a melhoria da composição do óleo. A determinação de parâmetros genéticos relacionados a estes caracteres pode facilitar a escolha do melhor método de seleção bem como oferecer estimativas de progresso durante o programa de melhoramento.

A escolha de progenitores e o planejamento dos cruzamentos são importantes etapas para o sucesso de um programa de melhoramento. Explorar de maneira racional a variabilidade dos progenitores disponíveis aumenta sobremaneira as chances de desenvolvimento de novas variedades. Dessa forma, deve-se planejar de maneira cuidadosa a combinação de progenitores, esperando-se assim que possam ser obtidos os melhores genótipos.

Para que seja possível definir as melhores combinações de progenitores em um programa de melhoramento, devem ser feitos testes adequados entre estes progenitores. Estes testes devem fornecer parâmetros genéticos que possibilitem a determinação dos melhores cruzamentos. Os dialelos são delineamentos genéticos utilizados com o intuito de estimar parâmetros úteis na seleção de progenitores para hibridação e no entendimento dos efeitos genéticos envolvidos na determinação dos caracteres (CRUZ & REGAZZI, 1994).

Quando diferentes progenitores contrastantes são combinados e testados, obtêm-se informações a respeito do genitor em si e de seu desempenho em relação a outros progenitores. Várias metodologias de análise dialélica têm sido descritas para a obtenção de estimativas desta natureza. No modelo proposto por GRIFFING (1956) são estimados os efeitos e as somas de quadrados de efeitos de capacidade geral e específica de combinação. No modelo proposto por GARDNER & EBERHART (1966) são avaliados os efeitos de variedades e heterose varietal. A proposta de HAYMAM (1954) fornece informações sobre o mecanismo básico de herança do caráter em estudo, dos valores genéticos dos progenitores utilizados e do limite de seleção. Assim, além de serem úteis no processo de seleção de progenitores, as análises dialélicas dão informações sobre importantes fenômenos genéticos, como heterose e controle genético dos caracteres (CRUZ & REGAZZI, 1994).

No Programa de Melhoramento da Qualidade e Sabor da Soja (PMQS) do BIOAGRO/UFV existem diferentes acessos para baixos teores de ácido

linolênico e alto teor de ácido oléico. Como mencionado anteriormente, linhagens naturais apresentam, para estes caracteres, um padrão de herança contínua. Até o presente momento, não existem relatos indicando estudos sobre a capacidade de combinação no desenvolvimento de cruzamentos para tais características. O estudo destas fontes deverá facilitar e otimizar o desenvolvimento de linhagens de interesse ao programa, permitindo a escolha das melhores combinações entre pais, tendo em vista a obtenção de ganhos genéticos para o aumento do conteúdo de ácido oléico e a redução do ácido linolênico.

Com base no que foi descrito, este trabalho tem como objetivos:

1. Avaliar o potencial e efetuar estudo de divergência genética de progenitores de soja com base nos teores de ácidos graxos.
2. Efetuar estudo de divergência genética com base em dados moleculares e correlacionar com as medidas de distância estimadas com base nos teores de ácidos graxos.
3. Avaliar a capacidade de combinação para os teores de ácidos graxos nas populações disponíveis do PMQS do BIOAGRO/UFV.
4. Estimar os parâmetros genéticos com relação aos teores dos ácidos graxos.
5. Identificar os cruzamentos de maior potencial, com base na média e na capacidade de combinação.
6. Detectar a existência de efeito recíproco em cruzamentos de progenitores de soja em relação aos teores de ácidos graxos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

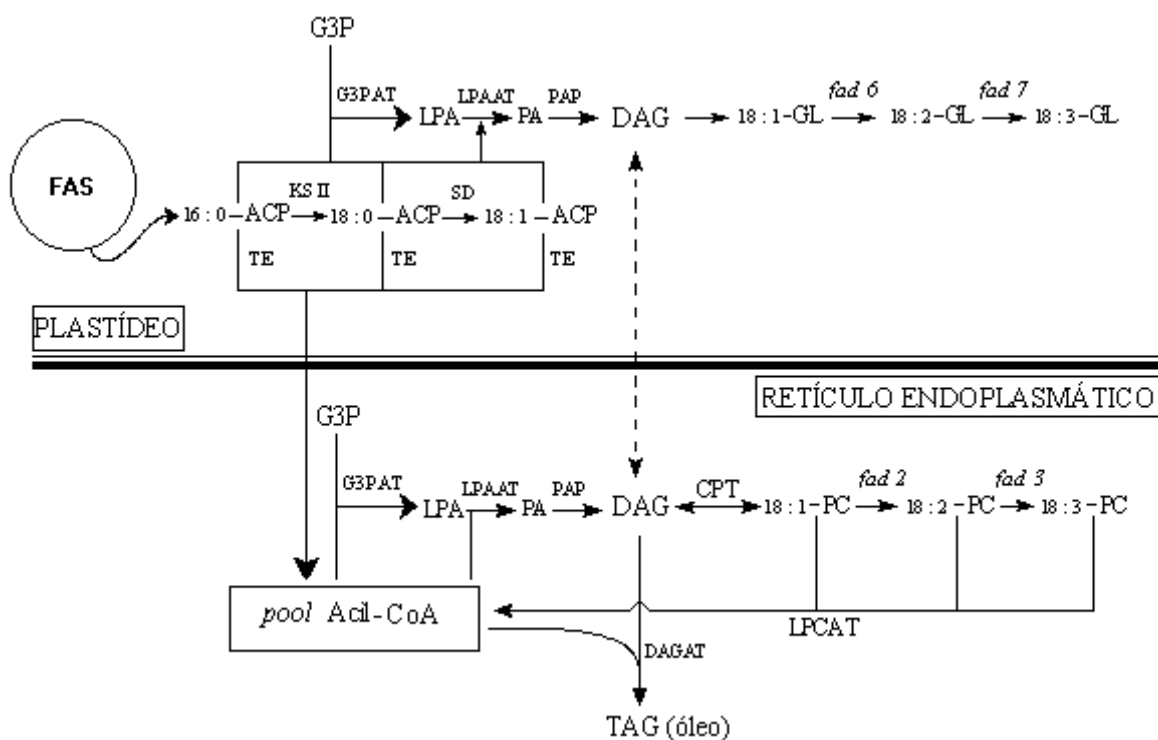
### 2.1. Biossíntese de Ácidos Graxos

A biossíntese de ácidos graxos em tecidos vegetais é via essencial para o metabolismo dos lipídios, pois fornece moléculas estruturais básicas para as membranas das células, na formação de glicerofosfolipídios e esfingolipídios (denominados lipídios de membranas ou polares), além de serem as principais formas de armazenamento químico de energia nas células, encontrados na forma de triacilgliceróis (denominados de lipídios de armazenamento ou neutros). Os triacilgliceróis (TAG) são os lipídios mais simples construídos a partir de ácidos graxos e consistem de uma molécula de glicerol esterificada a três cadeias de ácidos graxos iguais ou diferentes entre si (NELSON & COX, 2000).

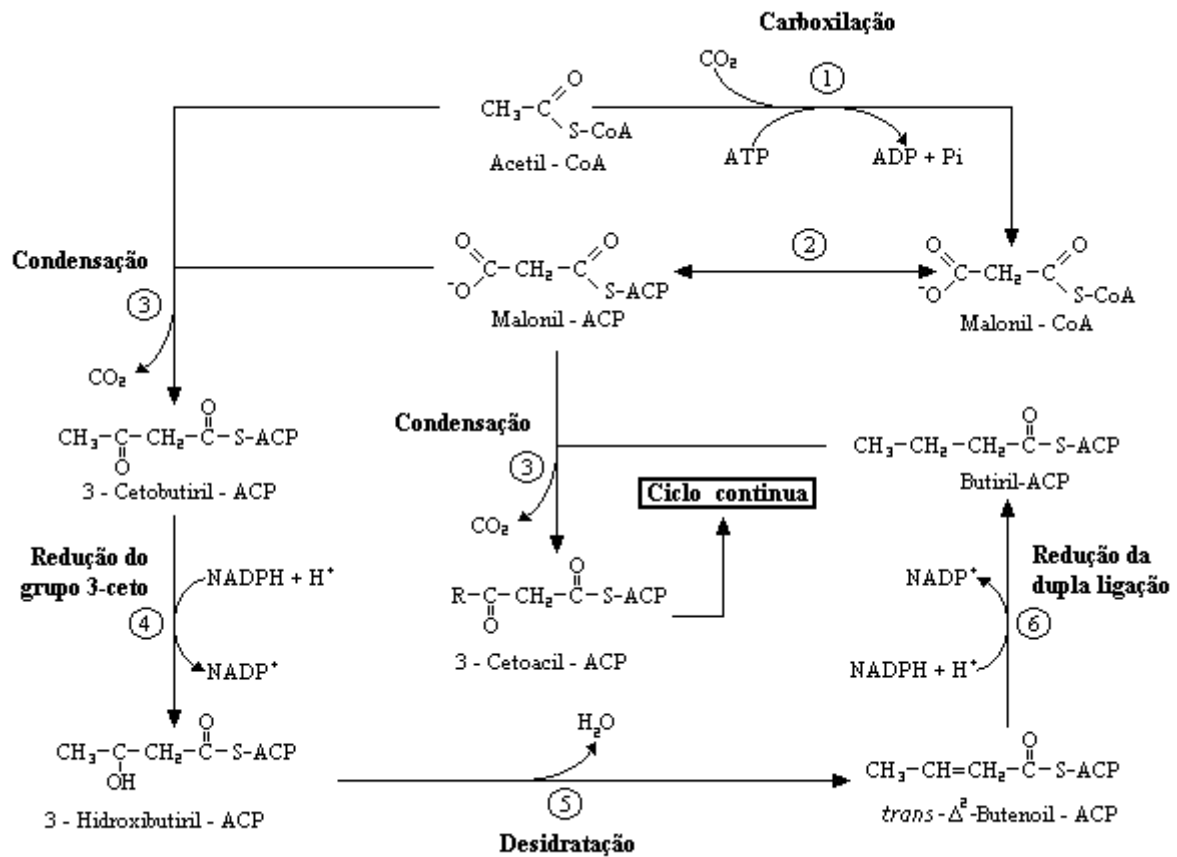
A biossíntese de ácidos graxos ocorre principalmente em duas organelas, nos cloroplastos e no retículo endoplasmático liso (Figura 1). O início da síntese ocorre nos cloroplastos, compartimento no qual o NADPH é disponível para as reduções necessárias à síntese, onde as cadeias de ácidos graxos são alongadas até comprimentos de 16 a 18 átomos de carbono. Neste compartimento ocorre ainda, de forma concomitante, a síntese de lipídios das membranas plastidiais (YADAV, 1996). No retículo endoplasmático liso, as cadeias de ácidos graxos provenientes dos cloroplastos são aumentadas,

insaturadas ou processadas em reações adicionais, para a formação de triacilgliceróis ou fosfolipídios, conforme as necessidades do metabolismo celular (MEKHEDOV *et al.*, 2000).

A via plastidial da síntese de ácidos graxos é marcada pela atuação de dois sistemas de enzimas: a acetil-CoA carboxilase (ACCCase) e a ácido graxo sintase (FAS) (Figura 2). A ACCase é responsável pela ativação de moléculas de acetil-CoA (os precursores da síntese de ácidos graxos) por meio da formação de malonil-CoA. Esta reação envolve a carboxilação do acetil-CoA, com gasto de ATP, formando de maneira irreversível o malonil-CoA, e indica o início da síntese. No processo sintético, todas as demais reações são catalisadas pela FAS, que consiste em um complexo multienzimático formado por sete polipeptídeos e pelo menos três outras proteínas. Essas proteínas agem em conjunto para catalisar a formação de ácidos graxos a partir de acetil-CoA e malonil-CoA (YADAV, 1996).



**Figura 1.** Representação esquemática da biossíntese do óleo em vegetais. O caminho biossintético de glicerolipídios, nos plastídios, é improvável de ser significativo em sementes oleaginosas em desenvolvimento. A linha tracejada entre DAGs (diacilgliceróis) plastidiais e extraplastidiais denota troca de glicerolipídeos entre os dois compartimentos por mecanismo(s) desconhecido(s) (YADAV, 1996 - Modificado). Abreviaturas e explicações, vide texto.



**Figura 2.** As reações da síntese de ácidos graxos saturados. Acetil-CoA é a unidade básica de construção da cadeia de ácido graxo e participa como substrato para a acetil-CoA carboxilase (reação 1) e como um iniciador para a reação de condensação (reação 3). Adaptado de OHLROGGE & BROWSE (1995).

A etapa inicial da elongação das cadeias acila dos ácidos graxos é a condensação dos grupos ativados acetil e malonil para formar um grupo acetoacetil-ACP, catalisada pela enzima  $\beta$ -Cetoacil-ACP sintase (KS). Esta reação inicial é promovida pela isoforma III da enzima KS. A isoforma KS I permite a elongação da cadeia acil até palmitoil-ACP (C16:0). A isoenzima II é requerida especificamente para a elongação de palmitoil-ACP (C16:0) a estearil-ACP (C18:0). Devido ao fato da enzima FAS (ácido graxo sintase) ser formada por polipeptídeos individuais torna-se possível ocorrerem alterações estequiométricas nas reações de condensação que constroem as cadeias de ácidos graxos, pelo uso de diferentes isoenzimas nos variados tipos celulares ou segundo os diferentes substratos (SOMERVILLE & BROWSE, 1991).

Após a etapa inicial de condensação, realizada pela enzima KS, seguem-se as etapas subseqüentes de redução do grupo carbonila do resíduo acil-ACP, catalisada pela enzima  $\beta$ -Cetoacil-ACP redutase (KR), convertendo 3-cetoacil-ACP em 3-hidroxiacil-ACP; desidratação, catalisada pela enzima  $\beta$ -Hidroxiacil-ACP desidratase (HD), formando 2,3 trans-enoil-ACP, um intermediário com dupla ligação; e, finalmente, a redução da dupla ligação, catalisada pela enzima Enoil-ACP redutase (ER), convertendo o 2,3 trans-enoil-ACP em um acil-ACP saturado (NELSON & COX, 2000).

O principal produto do sistema ácido graxo sintase (FAS) é o palmitato (16:0), precursor de ácidos graxos de cadeia longa, como o estearato (18:0) e outros ácidos graxos de cadeias mais longas. Alternativamente, o estearato pode sofrer dessaturações catalisadas por Acil-ACP dessaturases. No estroma dos plastídios, ocorre a dessaturação do estearil-ACP para a forma oleoil-ACP em uma reação catalisada pela estearil-ACP ( $\Delta^9$ ) dessaturase (SD) (LOS e MURATA, 1998). Esta enzima é uma dessaturase solúvel que requer  $O_2$  e ferredoxina reduzida como doadores de elétrons (YADAV, 1996). Como a enzima SD catalisa a primeira dessaturação que ocorre para a formação de ácidos graxos polinsaturados, o seu papel é fundamental na determinação da qualidade do óleo (OHLROGGE & JAWORSKI, 1997). Em contrapartida, pelo fato da enzima SD não dessaturar palmitoil-ACP, o controle da elongação de palmitoil-ACP a estearoil-ACP é um ponto-chave em determinar o nível de ácidos graxos saturados encontrados tanto nos lipídios de membrana quanto nos de reserva (SOMERVILLE & BROWSE, 1991).

As reações de síntese de ácidos graxos são terminadas pela hidrólise ou transferência da cadeia acila da ACP. A hidrólise é catalisada pela acil-ACP-tioesterase (TE), da qual existem dois tipos principais: uma tioesterase relativamente específica para 18:1-ACP e outra mais específica para acil-ACP saturados. Ácidos graxos que são liberados de ACPs pela tioesterase saem do plastídio e entram na via lipídica citosólica, onde são primeiramente esterificados a glicerolipídios no retículo endoplasmático (OHLROGGE & JAWORSKI, 1997).

Durante a biossíntese dos ácidos graxos, 16:0-ACP e 18:0-ACP são pontos de ataque para duas reações competitivas: a razão de atividade das

enzimas KS II e TE no substrato 16:0-ACP e a razão de atividade das enzimas SD e TE no substrato 18:0-ACP, as quais determinam o conteúdo de 16:0 e 18:0 sintetizados, respectivamente. Assim, a interação de pelo menos três enzimas-chave, KS II, SD e TE, determinam as quantidades relativas de 16:0, 18:0 e 18:ácidos graxos insaturados sintetizados (YADAV, 1996).

Em vegetais superiores existem duas vias para a biossíntese de ácidos graxos polinsaturados, uma localizada no retículo endoplasmático e outra localizada nos plastídios (HEINZ, 1993). Em ambas as vias, a biossíntese de 18:2 e 18:3 é dependente de O<sub>2</sub> e de glicerolipídios ligados aos substratos e as dessaturações são catalisadas pela ação da oleato ( $\Delta 6$ ) dessaturase e linoleato ( $\Delta 3$ ) dessaturase. O intermediário doador de elétrons no retículo endoplasmático é o citocromo b5 e no plastídio, a ferredoxina (YADAV, 1996; NELSON & COX, 2000). Fosfatidilcolina (PC) é o glicerolipídio primário utilizado como substrato ligado ao oleato e ao linoleato para a biossíntese de ácidos graxos polinsaturados no retículo endoplasmático, ao passo que nas membranas dos plastídios os substratos utilizados são galactolipídios (GL), em especial monogalactosil diacilglicerol e digalactosil diacilglicerol (YADAV, 1996). Em *Arabidopsis thaliana*, a oleato dessaturase e linoleato dessaturase do retículo endoplasmático são controladas pelos loci *fad 2* e *fad 3*, respectivamente, ao passo que na via plastidial, os loci responsáveis são *fad 6* e *fad 7* (Figura 1) (BROWSE & SOMERVILLE, 1991).

Em tecidos foliares, a produção de 18:2 e 18:3 ocorre tanto na via do retículo endoplasmático quanto na via dos plastídios, com trocas significativas de intermediários entre essas vias. No entanto, em sementes em desenvolvimento, durante o acúmulo de óleo no endosperma e em outros tecidos não fotossintetizantes, a via do retículo endoplasmático é predominante (YADAV, 1996).

A maior parte dos ácidos graxos sintetizados nos vegetais tem dois destinos, podendo ser incorporados em triacilgliceróis para armazenamento de energia metabólica ou em fosfolipídios componentes de membranas (NELSON & COX, 2000). Durante a biossíntese de triacilgliceróis, moléculas de Acil-CoA do *pool* citosólico são esterificadas a moléculas de glicerol pela ação de três aciltransferases microsossomais (Figura 1). As adições seqüenciais de grupamentos acila para as posições sn-1 e sn-2 de glicerol-3-fosfato (G3P),

são catalisadas pela glicerol-3-fosfato aciltransferase (G3PAT) e lisofosfatidil aciltransferase (LPAAT), respectivamente. A ação da G3PAT leva a formação de ácido lisofosfatídico (LPA), que por sua vez servirá de substrato para a atuação da LPAAT, resultando na síntese de ácido fosfatídico (PA). PA é convertido para diacilglicerol (DAG) por meio da fosfatidil fosfatase (PAP). DAG é um ponto de ramificação para a biossíntese de lipídios de membrana ou de reserva. Por exemplo, para a biossíntese de membranas, o DAG pode ser convertido em fosfatidilcolina (PC) por uma reação reversível catalisada pela enzima colinafosfotransferase (CPT), que serve como substrato para atuação de dessaturases no retículo endoplasmático. Os ácidos graxos polinsaturados produzidos nesta via podem retornar ao *pool* de acil-CoA citoplasmático pela ação da lisofosfatidilcolina transferase (LPCAT). Um outro caminho é a acilação final do DAG na posição sn-3 para a formação de TAG, catalisada pela enzima diacilglicerol aciltransferase (DAGAT) (YADAV, 1996).

Além do papel estrutural dos ácidos graxos na formação de membranas celulares e no armazenamento de energia, os tecidos vegetais utilizam derivados de ácidos graxos como substâncias sinalizadoras importantes. Nas plantas o ácido linolênico é convertido a jasmonato pela via das lipoxigenases. O jasmonato atua como ativador das vias de defesa de plantas contra insetos, na resistência a patógenos e na maturação do pólen (FARMER & RYAN, 1992). O jasmonato também afeta a germinação das sementes, o crescimento das raízes e o desenvolvimento de frutos e sementes (NELSON & COX, 2000).

## **2.2. Composição e Qualidade do Óleo**

Em sementes de oleaginosas existe extensa variação na composição dos ácidos graxos que são armazenados nos tecidos de reserva (TÖPFER *et al.*, 1995). Das diferentes fontes de óleos vegetais, o óleo de soja é o que apresenta um dos maiores teores de ácidos graxos polinsaturados, num total de 61,0% (Quadro 1). O ácido linoléico (18:2) compõe cerca de 53,2% do óleo de soja, seguido pelo ácido oléico, ácido palmítico, ácido linolênico e ácido esteárico. Outras formas de ácidos graxos são encontradas, no entanto, em menores conteúdos, como o ácido araquídico (20:0), palmitoléico (16:1) e mirístico (14:0) (LIU, 1997).

**Quadro 1.** Composição típica de ácidos graxos de espécies vegetais para óleos comestíveis (LIU, 1997)

Espécie	Percentual Relativo				
	Palmítico	Estearico	Oléico	Linoléico	Linolênico
Soja	11,0	4,0	23,4	53,2	7,8
Canola	3,9	1,9	64,1	18,7	9,2
Milho	12,2	2,2	27,5	57,0	0,9
Girassol	6,8	4,7	18,6	68,2	0,5
Oliva	13,7	2,5	71,1	10,0	0,6
Palma	45,1	4,7	38,8	9,4	0,3
Algodão	24,7	2,3	17,6	53,3	0,3

Devido a estas diferentes composições encontradas, os óleos e gorduras vegetais exibem diferentes propriedades físicas e funcionais que influenciam características de qualidade, como a estabilidade oxidativa, o atrativo nutricional e as aplicações na indústria de processamento. Em termos de propriedades físicas, o ponto de fusão é de extremo interesse nas aplicações dos óleos e gorduras. Uma maior número de átomos de carbono nas cadeias de ácidos graxos aumentam o ponto de fusão, ou seja, a transição de cadeias de 10 para cadeias de 20 carbonos marcam a transição da forma líquida de ácidos graxos para uma forma sólida à temperatura ambiente. A introdução de duplas ligações ao longo da cadeia de ácidos graxos leva a significativas quedas no ponto de fusão. Dessa forma, óleos que apresentem uma alta percentagem de ácidos graxos saturados possuem um ponto de fusão elevado e seu aspecto se assemelha a um produto de aparência sólida ou semi-sólida, as chamadas gorduras ou graxas. Em contrapartida, óleos com alto conteúdo de ácidos graxos polinsaturados têm um baixo ponto de fusão, apresentando-se na forma líquida (LIU, 1997).

A presença de duplas ligações nas cadeias de ácidos graxos também leva a uma maior suscetibilidade à oxidação ou peroxidação do óleo, ocorrendo assim a formação de compostos que reduzem o sabor e odor do produto (DUNTON *et al.*, 1951). Quanto maior o número de duplas ligações, menor se verifica a estabilidade do óleo frente aos processos oxidativos (NEF *et al.*, 1992). Devido ao fato de o óleo de soja conter alta proporção de ácidos graxos

polinsaturados em sua composição, a estabilidade química do óleo utilizado na indústria é comprometida.

Atualmente, para aumentar a estabilidade oxidativa no óleo de soja, utiliza-se a hidrogenação química (HILDEBRAND & COLLINS, 1998). Esse processo diminui substancialmente o conteúdo de ácidos graxos polinsaturados, no entanto, além de reduzir o atrativo econômico de se usar a fração óleo de soja, gera quantidades significativas de ácidos graxos saturados e de isômeros *trans* de ácidos graxos, principalmente o ácido *trans*-oléico (MORAES, 1999). O consumo desses compostos está diretamente relacionado com a incidência de certas doenças cardíacas (YADAV, 1996).

A configuração geométrica dos ácidos graxos que possuem duplas ligações, tem um significativo impacto nas propriedades físico-químicas dos óleos e gorduras (NEF & LIST, 1999). A configuração em *trans*, por exemplo, geralmente leva a um aumento do ponto de fusão, em relação à configuração em *cis*. Todos os ácido graxos insaturados que ocorrem naturalmente nas espécies vegetais apresentam-se na configuração *cis* (LIU, 1997). Como mencionado, formas *trans* de ácidos graxos são originadas nos processos de hidrogenação industrial, ou com o aquecimento do óleo a altas temperaturas.

A distribuição dos ácidos graxos na molécula de triacilglicerol é outro fator que influencia as propriedades e, por conseguinte, a sua qualidade. Embora não seja consenso quanto a influência da posição dos ácidos graxos no TAG na estabilidade oxidativa, alguns autores sugerem que ácidos graxos saturados devem ocupar preferencialmente as posições 1 e 2 para maiores ganhos em estabilidade (NEF *et al.*, 1992; NEF & LIST, 1999). Outros trabalhos indicam que a distribuição posicional dos ácidos graxos não tem influência ou efeito na estabilidade oxidativa (LIU, 1997).

São considerados ácidos graxos essenciais aqueles que não podem ser sintetizados pelos mamíferos, incluindo os humanos (SILVEIRA *et al.*, 1989). Os ácidos graxos linoléico (ácido  $\Delta 9,12$ -octadecadienóico) e linolênico (ácido  $\Delta 9,12,15$ -octadecatrienóico) são os únicos ácidos graxos essenciais conhecidos, unicamente pela inexistência de dessaturases no metabolismo dos mamíferos capazes de adicionar duplas ligações a partir do grupo metil terminal e a primeira dupla ligação do ácido oléico. A única via alternativa possível é a adição de grupos acetil para alongar a cadeia de ácidos graxos e

formar novas duplas ligações entre a última dupla ligação da cadeia e o grupo carboxílico do ácido graxo. Esta via é responsável pela produção do ácido araquidônico (20:4) e o ácido decosahexaenóico (22:6), a partir de precursores de prostoglandinas e outros eicosanóides, dependentes, portanto, do fornecimento na dieta dos ácidos linoléico e linolênico (LIU, 1997).

### **2.3. Melhoramento Genético para Teores de Ácidos Graxos**

Programas de melhoramento em soja voltados para a alteração da composição de ácidos graxos no óleo, visando a obtenção de ganhos em sua qualidade, originaram-se a partir da segunda metade do século XX (DUNTON, 1951). Na década de 80 e 90 numerosos programas de melhoramento para os teores de ácidos graxos já estavam em vigência (HAWKINS *et al.*, 1983; MOREIRA *et al.*, 1999). Inicialmente, pouca variabilidade genética foi amostrada para os teores de ácidos graxos entre as variedades e acessos encontrados nos bancos de germoplasma da época. Dessa forma, trabalhos iniciais de investigação nesta área surgiram principalmente com o intuito de se obter acessos com teores modificados para a sua utilização em programas de melhoramento.

Assim, os programas de melhoramento basearam-se inicialmente na obtenção de genótipos mutantes com teores modificados de ácidos graxos. Relativo sucesso foi alcançado e diversas linhagens mutantes foram selecionadas a partir do tratamento de sementes com agentes mutagênicos (HAMMOND & FEHR, 1983; WILCOX *et al.* 1984; TAKAGI *et al.* 1999; ROOS *et al.*, 2000).

Os principais objetivos em programas visando a alteração do teores de ácidos graxos são o aumento do teor de ácido oléico e a redução do teor de ácido linolênico. Dessa forma, diferentes genótipos com baixo conteúdo de ácido linolênico foram desenvolvidos (WILSON *et al.*, 1981; HAMMOND & FEHR, 1983; WILCOX *et al.* 1984; TAKAGI *et al.* 1990; PALMER *et al.*, 2003). Genótipos de soja com conteúdo de ácido oléico acima de 30% também foram desenvolvidos por melhoramento convencional (FEHR & CURTISS, 2004). Alternativamente, utilizando mutação induzida, novas fontes para alto teor de ácido oléico foram obtidas (RAHMAM *et al.* 1996b). Pelo uso de ferramentas de

engenharia genética, genótipos de soja com conteúdo de ácido oléico superior a 80% foram obtidos (KINNEY, 1994; KINNEY, 1996).

Em geral, a herança do conteúdo de ácidos graxos polinsaturados e monoinsaturados em cruzamentos entre parentais não mutantes é de natureza quantitativa (WHITE *et al.* 1961; BURTON, *et al.* 1983; GRAEF *et al.* 1988). Entretanto, pelo efeito de genes maiores, herança simples já foi constatada em cruzamentos envolvendo linhagens mutantes, com teores modificados de ácidos graxos (WILCOX & CAVINS, 1985; RAHMAM *et al.*, 1996; TAKAGI *et al.* 1999).

A avaliação da influência de ambientes contrastantes, como épocas diferentes de plantio ou diferentes temperaturas de desenvolvimento, tem mostrado efeitos significativos na expressão dos teores de ácidos graxos em sementes de soja (SCHNEBLY & FEHR, 1993; MORAES, 1999; LANNA, 2002). Constata-se, portanto, que a ação do ambiente sobre o *pool* genético que controla o conteúdo de ácidos graxos é de extrema relevância e que este caráter deve ser considerado como de herança quantitativa em programas de melhoramento.

Diferentes trabalhos têm sido conduzidos objetivando-se determinar quais os melhores esquemas seletivos para a obtenção de ganhos genéticos com relação aos teores de ácidos graxos. Métodos de melhoramento populacionais ou aqueles baseados na estruturação de famílias foram comparados quanto a sua eficiência. A comparação de seleção baseada em famílias ou entre linhas para os teores de ácidos graxos foi efetuada por BRAVO *et al.* (1999) e STREIT *et al.* (2001). Em ambos trabalhos não foi constatada maior eficiência de qualquer dos métodos, indicando que a escolha do método mais adequado a ser utilizado depende dos objetivos do programa e da disponibilidade de recursos.

Outro aspecto a ser considerado é a influência do genótipo materno na determinação dos teores de ácidos graxos em sementes. Efeito materno significativo foi encontrado para genótipos que apresentavam diferentes teores de ácidos graxos, principalmente para os teores de ácido palmítico, ácido esteárico e ácido oléico (BRIM *et al.*, 1968; MARTIN, *et al.* 1983). Em menor extensão também foi encontrado efeito do genótipo materno na análise de sementes  $F_1$  para o teor de ácido linolênico. Este fato impede a seleção de

sementes individuais a partir de planta segregantes, com o intuito de se selecionarem genótipos superiores para a qualidade do óleo (BRIM *et al.*, 1968).

#### **2.4. Divergência Genética por meio de Marcadores Moleculares SSR**

A caracterização molecular de genótipos de soja por meio de marcadores microssatélites (SSR) é amplamente utilizada em trabalhos de melhoramento (MORAES, 2003; NETO, 2001). A utilização de marcadores moleculares é eficiente na genotipagem de linhas e cultivares, pois permite acessar diferenças ao nível do DNA, sem a influência dos efeitos ambientais a que estão sujeitos os caracteres quantitativos. Estudos de divergência genética baseados em primers SSR indicam que esta classe de marcadores é bastante informativa com relação aos locos que acessam (NETO, 2001; NARVEL *et al.* 2000; RONGWEN *et al.* 1995).

A utilização de marcadores moleculares na caracterização do germoplasma da soja é tida como referência na determinação da variabilidade genética e na confecção de dendrogramas hierárquicos ou de gráficos de divergência por meio de componentes principais. NETO (2001), por exemplo, utilizou marcadores microssatélites (SSR) para caracterizar e confeccionar um dendrograma entre cultivares de soja. Comparativamente, PRIOLLI *et al.* (2002) utilizaram marcadores SSR para caracterizar um grupo de 41 cultivares brasileiros, concluindo que a utilização desta ferramenta pode substituir a utilização de critérios morfológicos e bioquímicos, em alguns casos, na análise de diversidade e registro de cultivares, principalmente quando se tem uma base genética estreita e um pool genético limitado, como no caso da soja.

### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1. Material Genético**

Foram utilizados sete linhagens ou progenitores de soja e seus respectivos cruzamentos, listados a seguir: B412 113 (1), BARC-12 (2), C2022 (3), CS303 (4), CS92 6602 (5), N85-2124 (6) e N85-2176 (7).

Os genótipos B412 113 (VMax, Syngenta Seeds), CS303 (Seleção CAC-1) e CS92 6602 (CS303/BARC12) constituem materiais elite do PMQS do BIOAGRO/UFV e apresentam teor normal de ácido linolênico, quando comparados ao teor médio encontrado em variedades comerciais.

Os genótipos BARC-12 (N85-2176/N85-2124), C2022 (Savoy/C1212-36=C1706R-19), N85-2124 (N78-2245/PI-123400) e N85-2176 (N78-2245/PI-123440) apresentam baixo conteúdo de ácido linolênico. Dentre estes, os acessos BARC-12, N85-2124 e N85-2176 possuem o conteúdo de ácido oléico variando de médio a alto. Portanto, os genótipos 2, 3, 6 e 7 são progenitores doadores de genes favoráveis para os teores modificados de ácidos graxos.

#### **3.2 Procedimentos Experimentais**

O plantio e a hibridação artificial entre os progenitores foram realizados em casa de vegetação, no setor de estufas da UFV. As sementes foram semeadas em vasos contendo três litros de solo previamente adubado.

A etapa de cultivo dos progenitores e obtenção dos híbridos e recíprocos iniciou-se em fevereiro de 2003 tendo terminado em julho de 2003.

### **3.2.1. Obtenção das Médias dos Teores de Ácidos Graxos dos Progenitores por Meio de *Bulks* de Sementes**

Em ensaio conduzido no delineamento inteiramente casualizado, os sete progenitores foram plantados em vasos, recebendo cada vaso duas sementes. Um total de dez repetições para cada progenitor foi conduzido até o ponto de colheita, sendo cada repetição constituída de uma planta. Cada planta foi colhida separadamente e analisada em forma de *bulk* de sementes. Cada *bulk*, representativo de cada planta ou repetição, era constituído por dez sementes.

### **3.2.2. Obtenção de Sementes dos Cruzamentos $F_1$ e Recíprocos**

Para a obtenção dos híbridos e seus recíprocos, os progenitores foram cruzados entre si, com todas as possíveis combinações de cruzamentos. A hibridação artificial, efetuada de forma manual e com o auxílio de uma pinça, foi realizada na porção mediana de todas as plantas para minimizar o efeito posicional na composição do óleo.

As sementes dos  $F_1$ 's e recíprocos obtidos dos cruzamentos foram colhidos individualmente e identificados. Posteriormente, as sementes foram analisadas individualmente para a determinação dos teores de ácidos graxos, em ensaios não destrutivos, de maneira a preservar o seu poder germinativo. Sementes individuais oriundas dos progenitores também foram analisadas quanto ao conteúdo de ácidos graxos.

### **3.3. Divergência Genética e Identificação de Híbridos por Meio de Marcadores SSR (*Simple Sequence Repeat*)**

Para se determinar as distâncias genéticas com base em marcadores moleculares entre os progenitores utilizados, bem como realizar a identificação dos híbridos e recíprocos com o intuito de se evitar a inclusão de autofecundações indesejáveis, foram utilizados primers microssatélites da soja.

As sementes  $F_1$  e recíprocos foram plantadas em casa-de-vegetação com objetivo de se avançar mais uma geração para estudos posteriores. Dessa

forma foi possível avaliar o sucesso dos cruzamentos por meio da análise do material genético proveniente dos indivíduos F<sub>1</sub> e recíprocos.

Amostras de folhas dos progenitores, indivíduos F<sub>1</sub> e recíprocos foram coletadas e identificadas. A extração do DNA total foi realizada segundo o protocolo de DOYLE & DOYLE (1990).

As reações de amplificação foram efetuadas em um volume total de 15 µL contendo: 12,5 µM de Tris-HCl (pH 8,3); 62,5 µM de KCl; 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>; 125 µM de cada desoxirribnucleotídeo (dNTP); 0,6 µM de cada *primer*, uma unidade da enzima Taq polimerase; e, finalmente, 10 ng de DNA.

As amostras preparadas foram submetidas a reações de amplificação por meio da técnica de PCR, em termociclador, com as seguintes condições: uma etapa inicial de 7 min a 72 °C; 30 ciclos de 1 min a 94 °C, 1 min a 50 °C, e 2 min a 72 °C; uma etapa final de 7 min a 72 °C.

Os fragmentos amplificados foram separados por eletroforese em gel não desnaturante de poliacrilamida a 10% durante 4 horas a 120 V. Para a obtenção das imagens, os géis foram corados em solução de brometo de etídio (0,2 mg/mL) e fotografados, tendo a sua imagem digitalizada no sistema Eagle Eye II (Stratagene).

### **3.4. Análise do Conteúdo de Ácidos Graxos**

A identificação e a quantificação de ácidos graxos presentes na fração óleo das sementes de soja (palmítico, esteárico, oléico, linoléico e linolênico) foi realizada por cromatografia gasosa. De forma a preservar o poder de germinação das semente, uma porção de 15 mg de cada semente foi cortada no lado oposto do embrião, e triturada manualmente, utilizando-se uma lâmina. A cada amostra de 15 mg do material triturado foi adicionado 1 mL de hexano, sendo a mistura mantida a 4 °C por cerca de 16 h, sob atmosfera de N<sub>2</sub>. Após esse tempo, a solução de lipídios em hexano foi transferida para outro tubo e o solvente, evaporado por borbulhamento de N<sub>2</sub>. Para a obtenção dos ésteres metílicos, foi utilizada a metodologia descrita por BUBECK *et al.* (1989). À fração lipídica foi adicionado 0,4 mL de metóxido de sódio 1 M, sendo os tubos mantidos em banho-maria, a 30 °C, por cerca de uma hora. Em seguida, foram acrescentados 1 mL de água deionizada e 1,5 mL de hexano. Após uma hora,

com o auxílio de uma pipeta, cerca de 0,75 mL da fase orgânica foi transferida para outros tubos, aos quais foram adicionados 2 mg de sulfato de sódio anidro.

Finalmente, após a derivatização, 1 µl da fase orgânica obtida foi injetada em cromatógrafo a gás GC-17A, equipado com auto-injetor AOC-17 e integrador C-R7A, marca SHIMADZU. A coluna utilizada foi a do tipo Carbowax (30 m × 0,32 mm). As condições de análise empregadas foram as seguintes: temperatura da coluna igual a 225 °C; do injetor, 245 °C; e do detector, 280 °C. O gás de arraste foi o nitrogênio, com um fluxo de 1,3 mL/min.

### 3.5. Análises Estatísticas

As análises estatísticas e genéticas foram realizadas com base nos dados dos teores de ácidos graxos das populações obtidas, no caso de dados quantitativos, ou com base nos dados binários obtidos por meio dos marcadores moleculares. Para a realização das análises estatísticas empregou-se o programa GENES (CRUZ, 1997).

#### 3.5.1. Análise de Variância

Os dados das gerações obtidas foram preliminarmente submetidos a análise de variância para se constatar a existência de variabilidade genética significativa entre os genótipos (progenitores, F<sub>1</sub>'s e recíprocos).

O delineamento experimental empregado foi o delineamento inteiramente casualizado. O modelo estatístico adequado para a análise de variância é descrito a seguir:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

em que:

$Y_{ij}$  = j-ésima observação no i-ésimo tratamento;

$\mu$  = média geral;

$T_i$  = efeito fixo do i-ésimo tratamento (i=1 ,2 ,3 ..., g); e,

$e_{ij}$  = erro experimental (j=1, 2, ..., r),  $e_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$ .

O esquema da análise de variância é apresentado no Quadro 2. A hipótese a ser testada é  $H_0: T_1 = T_2 = \dots = T_g$ , pelo teste F.

**Quadro 2.** Esquema de análise de variância para cada um dos caracteres avaliados

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>E(QM)</b>	<b>F</b>
Tratamento	t-1	QMT	$s_e^2 + r\Phi g$	$\frac{QMT}{QMR}$
Resíduo	(n-t)	QMR	$s_e^2$	
Total	n-1	QMT <sub>0</sub>		

t= 7 para a análise dos progenitores;

t= 36 para a análise dos progenitores, F<sub>1</sub>'s e recíprocos.

O coeficiente de variação experimental (CV) será determinado pela seguinte expressão:

$$CV\% = \frac{100 \times \sqrt{QMR}}{m}$$

Em que:

$QMR$  = Quadrado Médio do Resíduo;

$m$  = média do caráter.

O coeficiente de determinação genotípico ( $h^2$ ) e o coeficiente de variação genético ( $CV_g$ ) foram calculados conforme as expressões:

$$h^2 = \frac{f_g}{f_g + \frac{s_e^2}{r}}$$

$$CV_g\% = \frac{100 \times \sqrt{f_g}}{m}$$

### 3.5.2 Determinação das Distâncias Genéticas por Meio de Técnicas Multivariadas

#### 3.5.2.1. Medidas de Dissimilaridade Obtidas de Variáveis Quantitativas

As distâncias genéticas entre os progenitores, baseadas nos teores de ácidos graxos, foram determinadas por meio das distâncias generalizadas de Mahalanobis, uma vez que se dispunha de matriz de variâncias e covariâncias residuais. Com base na matriz de distâncias generalizadas de Mahalanobis utilizou-se o método de otimização de Tocher para o agrupamento dos

progenitores em grupos homogêneos. Da mesma forma, utilizando o método hierárquico de ligação média dentro de grupo, foi elaborado o dendrograma relativo às distâncias calculadas.

A técnica de Variáveis Canônicas foi utilizada para a obtenção de um gráfico bi-dimensional para a representação das distâncias no plano.

### 3.5.2.2. Medidas de Dissimilaridade Obtidas de Dados Moleculares

As distâncias genéticas entre os progenitores foram estimadas com base nas análises efetuadas por meio de marcadores microssatélites, utilizando-se o complemento do coeficiente de coincidência simples ( $1 - CS$ ) como medida de dissimilaridade, em que:

$$CS = \frac{N + 2M}{2(D + M)}$$

sendo:

N = soma do número de alelos comuns considerando todos os locos exceto aqueles monomórficos;

D = número total de locos;

M = número de marcadores monomórficos homocigóticos.

### 3.5.3. Determinação do Coeficiente de Repetibilidade da Geração $F_1$

O coeficiente de repetibilidade para a análise de sementes  $F_1$  foi estimado por meio dos resultados da análise de variância. Foi empregado o seguinte modelo para a determinação do coeficiente de repetibilidade:

$$Y_{ij} = \mu + g_i + a_j + e_{ij}$$

em que:

$Y_{ij}$  = observação referente ao  $i$ -ésimo genótipo referente à  $j$ -ésima semente analisada;

$\mu$  = média geral;

$g_i$  = efeito aleatório do  $i$ -ésimo genótipo sob influência do ambiente permanente ( $i=1, 2, 3, \dots, g$ );

$a_j$  = efeito fixo do ambiente temporário posicional na  $j$ -ésima semente analisada ( $j = 1, 2, \dots, \eta$ ); e,

$e_{ij}$  = erro experimental estabelecido pelos efeitos temporários do ambiente na j-ésima medição do i-ésimo genótipo.

O coeficiente de repetibilidade é dado por:

$$r = \hat{r} = \frac{C\hat{o}v(Y_{ij}, Y_{ij'})}{\sqrt{\hat{V}(Y_{ij})\hat{V}(Y_{ij'})}} = \frac{\hat{S}_g^2}{\hat{S}_Y^2} = \frac{\hat{S}_g^2}{\hat{S}^2 + \hat{S}_g^2}$$

### 3.5.4. Análise Dialélica da Geração F<sub>1</sub>

#### 3.5.4.1. Análise Dialélica pelo Modelo de GRIFFING (1956)

As análises dialélicas foram realizadas a partir das médias obtidas das p<sup>2</sup> combinações dos genótipos utilizados na confecção dos cruzamentos e os respectivos progenitores. A metodologia utilizada para a análise dialélica foi aquela proposta por GRIFFING (1956). O método 1 foi adotado por incluir em sua análise os progenitores, os híbridos F<sub>1</sub>'s e os seus recíprocos. O modelo fixo foi adotado, por se considerar que os progenitores utilizados nos cruzamentos são grupos de progenitores escolhidos, não sendo amostra ao acaso de uma população.

O modelo estatístico é dado por:

$$Y_{ij} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + r_{ij} + \bar{e}_{ij}.$$

em que:

$Y_{ij}$  = média de k repetições do cruzamento entre o progenitor i e o progenitor j;

$\mu$  : média geral do dialelo;

$g_i, g_j$  = efeitos da capacidade geral de combinação do i-ésimo e do j-ésimo progenitor (i, j = 1, 2 ... p);

$s_{ij}$  = efeito da capacidade específica de combinação para os cruzamentos entre os progenitores de ordem i e j; e

$r_{ij}$  = efeito recíproco que mede as diferenças proporcionadas pelo progenitor i, ou j, quando utilizado como macho ou fêmea no cruzamento ij; e

$\bar{e}_{ij}$  : erro experimental médio.

Neste modelo são considerados  $s_{ij} = s_{ji}$ ,  $r_{ij} = -r_{ji}$  e  $r_{ii} = 0$ .

As seguintes restrições são impostas para que o modelo seja válido:

$$\bar{e}_{ij} \sim N(0, \mathbf{s}_e^2);$$

$$\sum_{i=1}^p g_i = 0;$$

$$\sum_j s_{ij} = 0, \text{ para todo } i.$$

Considerando as restrições apresentadas, têm-se os seguintes estimadores dos efeitos:

$$\hat{m} = \frac{Y_{..}}{p^2};$$

$$\hat{g}_i = \frac{Y_{i.} + Y_{.j}}{2p} \left( -\frac{Y_{..}}{p^2} \right);$$

$$\hat{s}_{ii} = Y_{ii} - \frac{Y_{i.} + Y_{.j}}{2} + \frac{Y_{..}}{p^2};$$

$$\hat{s}_{ij} = -\frac{Y_{ij} + Y_{ji}}{2} - (\hat{m} + \hat{g}_i + \hat{g}_j);$$

$$\hat{r}_{ij} = \frac{Y_{ij} + Y_{ji}}{2},$$

em que:

$\hat{m}$  = estimador da média geral;

$\hat{g}_i$  = estimador dos efeitos da capacidade geral de combinação;

$\hat{s}_{ii}$  e  $\hat{s}_{ij}$  = estimadores dos efeitos da capacidade específica de combinação; e,

$\hat{r}_{ij}$  = estimador do efeito recíproco.

As variâncias dos efeitos e de contrastes entre efeitos foram estimadas para que se possa testar as hipóteses sobre o modelo. O esquema da análise de variância é descrito no Quadro 3.

**Quadro 3.** Esquema da análise de variância e das esperanças de quadrados médios, de acordo com o método 1 e modelo fixo de GRIFFING (1956)

FV	GL	QM	E(QM)	F
CGC	p-1	QMG	$s_e^2 + 2p\Phi_g$	QMG/QMR
CEC	p(p-1)/2	QMS	$s_e^2 + \Phi_s$	QMS/QMR
ER	p(p-1)/2	QMRC	$s_e^2 + 2\Phi_{rc}$	QMRC/QMR
Resíduo	F	QMR	$s_e^2$	-

*f*: número de graus de liberdade do resíduo da análise de variância preliminar.

QMR: Quadrado Médio do Resíduo dividido pelo número de repetições.

CGC: Capacidade Geral de Combinação.

CEC: Capacidade Específica de Combinação.

ER: Efeito Recíproco.

### 3.5.4.2. Análise Dialélica pelo Modelo de COCKERHAM & WEIR (1977)

Os indivíduos  $F_1$  e recíprocos foram submetidos a análise dialélica segundo a metodologia de COCKERHAM & WEIR (1977). Segundo esta metodologia, são utilizados dois modelos.

O modelo 1 caracteriza-se por:

$$Y_{ijk} = m + G_i + G_j + S_{ij} + D_i - D_j + R_{ij} + \bar{e}_{ij}.$$

em que:

$m$  = efeito da média geral;

$G_i$  e  $G_j$  = efeitos da capacidade geral de combinação (CGC) associados ao progenitores  $i$  e  $j$ ;

$S_{ij}$  = efeitos da capacidade específica de combinação (CEC) entre os progenitores  $i$  e  $j$ ;

$D_i$  e  $D_j$  = efeitos recíprocos gerais (Rec. Geral) associado aos progenitores  $i$  e  $j$ ;

$R_{ij}$  = efeito recíproco específico (Rec. Específico) manifestado no  $i$  e  $j$ -ésimo cruzamento.

Neste modelo,  $Y_{ij}$  e  $\bar{e}_{ij}$  são respectivamente, a média experimental e o erro aleatório médio associados ao tratamento de ordem  $ij$ .

O modelo 2, chamado de modelo biológico, caracteriza-se por:

$$G_{ij} = n_i + n_j + t_{ij} + m_i + p_j + k_{ij}$$

em que:

$G_{ij}$  = valor genético associado ao tratamento de ordem ij;

$n_i$  e  $n_j$  = efeitos genéticos que representam a contribuição nuclear dos progenitores i e j, respectivamente;

$t_{ij}$  = interação de efeitos nucleares;

$m_i$  = efeito maternal extranuclear;

$p_j$  = efeito paternal extranuclear;

$k_{ij}$  = interação entre efeitos extranucleares e entre efeitos nucleares.

O esquema da análise de variância é descrito no Quadro 4, a seguir:

**Quadro 4.** Esquema da análise de variância e das esperanças de quadrados médios, de acordo com o modelo 1 (COCKERHAM & WEIR, 1977)

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
CGC	p-1	QMG	QMG/QMS
CEC	p(p-1)/2	QMS	QMS/QMR
ER geral	p-1	QMRG	QMRG/QMRS
ER específico	p(p-1)/2	QMRS	QMRS/QMR
Resíduo	F	QMR	-

*f*: número de graus de liberdade do resíduo da análise de variância preliminar.

QMR: Quadrado Médio do Resíduo dividido pelo número de repetições.

CGC: Capacidade Geral de Combinação.

CEC: Capacidade Específica de Combinação.

ER: Efeito Recíproco.

As estimativas das variâncias associadas aos efeitos dos modelos 1 e 2 foram obtidas de acordo com CRUZ (1997).

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1. Divergência Genética em Cultivares de Soja Contrastantes Para os Teores de Ácidos Graxos**

#### **4.1.1. Análise de Variância**

Os resultados da análise de variância para os teores de ácidos graxos entre os cultivares utilizados no estudo de divergência são apresentados no Quadro 5. Pode-se verificar que para todos os caracteres avaliados houve diferença significativa entre os cultivares, pelo teste F, a 1% de significância. Este resultado indica a existência de variabilidade genética para os teores de ácidos graxos, entre os progenitores utilizados no experimento, o que possibilita a formação de populações-base a partir de cruzamentos efetuados entre estes. Os coeficientes de variação experimental (CV) avaliados para os teores de ácidos graxos variaram entre 4,59% e 17,65%. De acordo com PIOVESAN (2000), que utilizou oito caracteres agronômicos e o teor de proteína de sementes entre genitores contrastantes, estes valores são satisfatórios neste tipo de experimento.

Os coeficientes de determinação genotípica, para todos os teores de ácidos graxos, foram superiores a 90%. Da mesma forma, a razão  $CV_g/CV$  foi superior a unidade em todos os caracteres avaliados indicando que, neste

experimento em particular, houve predominância dos efeitos genéticos sobre os efeitos ambientais.

**Quadro 5.** Valores e significâncias dos Quadrados Médios (QM), Médias e Coeficientes de Variação Experimental (CV), obtido da análise de variância no delineamento inteiramente casualizado, entre os sete cultivares de soja avaliados para os teores de ácido palmítico (16:0), ácido esteárico (18:0), ácido oléico (18:1), ácido linoléico (18:2) e ácido linolênico (18:3)

FV	GL	Quadrados Médios				
		16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
<b>Genótipos</b>	6	8,8770**	3,5255**	1982,9418**	1236,8346**	57,5697**
<b>Resíduo</b>	63	0,2368	0,0716	25,3207	18,0666	0,2897
<b>Média</b>		10,5992	2,9620	28,5150	52,3965	5,5183
<b>CV (%)</b>		4,5909	9,0339	17,6468	8,1122	9,7539
<b>h<sup>2</sup></b>		97,3327	97,9690	98,7231	98,5393	99,4968
<b>CVg/CV (%)</b>		1,9103	2,1963	2,7805	2,5973	4,4465

\*\* P<0,01

Por ter sido constatado que a variância genotípica foi significativa para os teores dos ácidos graxos avaliados, realizou-se o teste para a diferenciação das médias para cada ácido graxo. No Quadro 6 são observadas as médias dos teores de ácidos graxos de cada progenitor, que foram comparadas pelo teste de Duncan. Os genótipos que apresentaram os maiores teores de ácido oléico foram os cultivares BARC-12 e N85-2176, com valores de 49% e 47%, respectivamente. Como mencionado, genótipos de soja com teores elevados de ácido oléico tornam o óleo menos suscetível ao processo de oxidação, aumentando assim o seu valor para a indústria (RAHMAM, *et al.*, 1996a). Estes genótipos apresentam, portanto, bom desempenho para alto conteúdo de ácido oléico, servindo como importante fonte de variabilidade em programas de melhoramento que visem a qualidade do óleo de soja. Os demais cultivares apresentaram teores variando de 16,0% a 25,0%, considerados teores normais de ácido oléico.

Os cultivares BARC-12, N85-2176, C2022 e N85-2124, apresentaram baixos teores de ácido linolênico (Quadro 6). Dentre estes genótipos, os cultivares BARC-12 e N85-2176 foram os que apresentaram os menores

conteúdos de ácido linolênico, em torno de 3%, seguidos pelos cultivares C2022 e N85-2124 que apresentaram valores em torno de 4%. Da mesma forma, tais cultivares apresentam desempenho desejável, pois genótipos de soja com reduzido teor de ácido linolênico são menos suscetíveis a processos oxidativos. Assim, os cultivares citados são importantes fontes para a utilização em programas de melhoramento genético visando a qualidade do óleo de soja para a agroindústria. Os demais cultivares (B412113, CS303 e CS92 6602) apresentaram conteúdo médio de ácido linolênico em torno de 8%, considerado como um conteúdo normal deste ácido graxo polinsaturado.

**Quadro 6.** Valores médios dos teores de ácido palmítico (16:0), ácido esteárico (18:0), ácido oléico (18:1), ácido linoléico (18:2) e ácido linolênico para os sete cultivares de soja avaliados. As médias seguidas de mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Duncan

Genótipos	Ácidos Graxos				
	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
1. BARC-12	9,5815 d	2,7177 c	49,9275 a	34,8679 c	2,8979 d
2. B412113	10,8242 c	3,7644 a	16,1573 d	61,2140 a	8,0401 a
3. C2022	11,2970 ab	3,5857 a	19,2867 cd	61,7036 a	4,0639 b
4. CS303	10,9695 bc	3,3277 b	18,5891 cd	59,1575 ab	7,8956 a
5. CS92 6602	11,0484 bc	2,4366 d	22,4272 bc	55,8974 b	8,1905 a
6. N85-2124	11,4921 a	2,6641 c	25,9597 b	55,7302 b	4,1539 b
7. N85-2176	8,9816 e	2,2380 d	47,2575 a	38,2050 c	3,3860 c

As médias para os teores do ácido palmítico, esteárico e linoléico também evidenciaram diferenças entre os progenitores. Estes resultados indicam que, embora os cultivares tenham sido selecionados no presente estudo por apresentarem diferenças para os teores de ácido oléico e linolênico, os demais ácidos graxos também apresentam certo nível de variabilidade genética que torna possível sua utilização em um programa de melhoramento. Este fato também pode ser confirmado pela análise de variância apresentada no Quadro 5.

#### 4.1.2. Divergência Genética por Meio das Distâncias Generalizadas de Mahalanobis e por Variáveis Canônicas

Na obtenção de populações adequadas a programas de melhoramento, o estudo da divergência genética entre progenitores é de fundamental importância, pois permite a maximização das possibilidades de recuperação de genótipos superiores em gerações segregantes. A escolha dos melhores cruzamentos pode ser predita pela avaliação do potencial genotípico dos genitores, o desempenho per se, e com base em medições efetuadas entre estes genitores, pela determinação das distâncias genéticas entre eles.

No Quadro 7 são encontradas as distâncias generalizadas de Mahalanobis entre os cultivares avaliados para os teores de ácidos graxos. A maior distância encontrada foi entre o cultivar BARC-12 e o cultivar CS92 6602 o que, segundo CRUZ & REGAZZI (1997), indica haver maior efeito heterótico e heterozigose na combinação híbrida entre estes genótipos. Entre os progenitores B412113 e CS303, observou-se a menor distância, sugerindo ser menos recomendável a utilização de populações segregantes, obtidas a partir do cruzamento entre estes genótipos, com o objetivo de se selecionarem linhagens superiores para os teores de ácidos graxos.

**Quadro 7.** Distâncias Generalizadas de Mahalanobis ( $D^2$ ) entre cultivares de soja, com base nos teores de ácidos graxos

	<b>B412113</b>	<b>C2022</b>	<b>CS303</b>	<b>CS92 6602</b>	<b>N85-2124</b>	<b>N85-21767</b>
<b>BARC-12</b>	138,4288	46,21263	116,6333	<b>148,2797</b>	36,26407	20,62883
<b>B412113</b>		87,40636	<b>5,528951</b>	51,9612	117,6587	102,5029
<b>C2022</b>			81,80539	140,7581	30,33341	51,5999
<b>CS303</b>				25,61226	87,60058	79,25441
<b>CS92 6602</b>					92,60583	88,94308
<b>N85-2124</b>						29,41303

$D^2$  máximo: **148,2797**  
 $D^2$  mínimo: **5,5290**

Tendo em vista que os cultivares BARC-12 e N85-2176 apresentaram os maiores conteúdos de ácido oléico, assim como os menores conteúdos de ácido linolênico (Quadro 6), foram analisadas as distâncias de Mahalanobis entre estes genótipos, em específico, e os demais. Para o progenitor BARC-12 as maiores distâncias encontradas foram entre os genótipos B412113, CS303 e CS92 6602, sugerindo serem estas as melhores combinações envolvendo

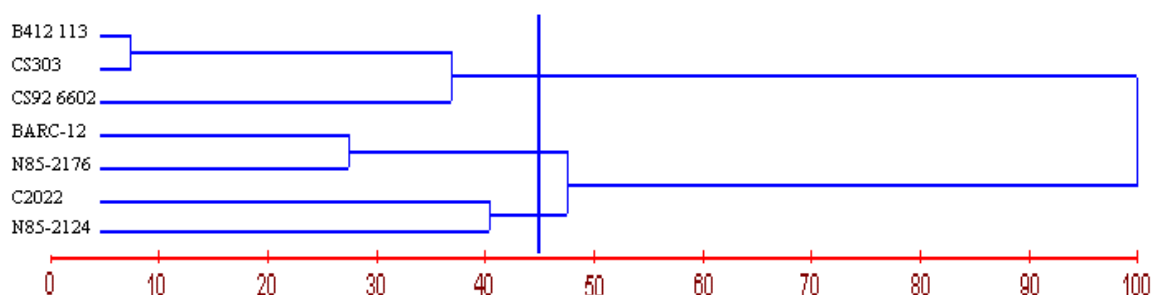
como parental o genótipo BARC-12. Para o progenitor N85-2176, as maiores distâncias encontradas foram aquelas obtidas entre os genótipos B412113, CS303 e CS92 6602, coincidindo com as combinações preditas para o parental BARC-12. Estes cruzamentos também podem ser preditos pelo desempenho médio dos progenitores com relação aos teores de ácidos graxos.

Ainda, com base na matriz de distâncias de Mahalanobis, foi calculada a contribuição relativa dos teores de ácidos graxos na determinação da divergência genética de acordo com SINGH (1981). Os resultados indicam que o teor de ácido linolênico foi o que apresentou maior contribuição relativa (44,35%), seguido pelo teor de ácido oléico (29,60%) e o teor de ácido linoléico (23,16%). Os ácidos graxos saturados esteárico (2,27%) e palmítico (0,64%) apresentaram contribuições relativas de pequena magnitude, se comparados com os outros caracteres, na determinação da divergência genética. Este resultado é esperado uma vez que os progenitores utilizados no presente estudo foram selecionados principalmente com base em suas diferenças para os teores de ácido oléico e linolênico.

Na Figura 3, observa-se o dendrograma obtido para o agrupamento dos progenitores dado pelo método hierárquico de ligação média dentro de grupos, com base na matriz de distâncias generalizadas de Mahalanobis. O ponto de significância adotado (0,45 de distância de ligação) sugere a formação de três grupos de progenitores. O Grupo 1, formado pelos progenitores B412113 (2), CS303 (4) e CS92 6602 (5), que apresentam teores normais de ácidos graxos. O Grupo 2 formado pelos progenitores BARC-12 (1) e N85-2176 (7), que apresentam alto oléico e baixo linolênico. Os progenitores C2022 (3) e N85-2124 (6) compõem o Grupo 3 e apresentam baixo conteúdo de ácido linolênico.

A divergência genética entre os cultivares também foi avaliada por meio da técnica das variáveis canônicas. Esta técnica permite avaliar a similaridade dos genitores por intermédio de uma dispersão gráfica, facilitando a visualização dos resultados. Este processo leva em consideração a utilização das matrizes de covariâncias residual e fenotípica entre os caracteres avaliados e permite transformar o conjunto de “n” variáveis avaliadas em um novo conjunto de variáveis que são combinações lineares do conjunto original (CRUZ & REGAZZI, 1997). No Quadro 8 são apresentadas as distâncias Euclidianas com base nos escores das duas primeiras variáveis canônicas

estimadas. As duas primeiras variáveis canônicas permitiram acumular cerca de 86,0 % da variância das variáveis originais.



**Figura 3.** Dendrograma obtido pelo método hierárquico de ligação média dentro de grupos com base nas distâncias generalizadas de Mahalanobis ( $D^2$ ) calculadas a partir dos conteúdos de ácidos graxos entre os cultivares de soja BARC-12, B412 113, C2022, CS303, CS92 6602, N85-2124 e N85-2176

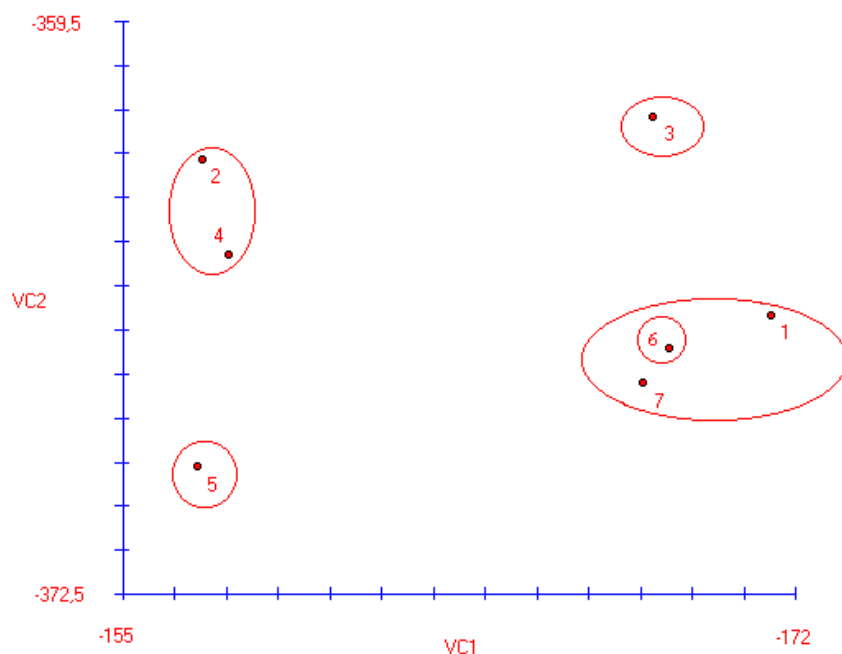
**Quadro 8.** Dissimilaridades entre cultivares de soja baseadas nas distâncias Euclidianas obtidas a partir dos escores das duas primeiras Variáveis Canônicas

	<b>B412113</b>	<b>C2022</b>	<b>CS303</b>	<b>CS92 6602</b>	<b>N85-2124</b>	<b>N85-2176</b>
<b>BARC-12</b>	11,5849	4,9874	10,5419	11,5947	2,1941	3,0033
<b>B412113</b>		8,8728	2,1300	6,8446	9,9775	9,9517
<b>C2022</b>			8,7504	<b>11,8239</b>	5,2708	6,1068
<b>CS303</b>				4,8467	8,6977	8,5037
<b>CS92 6602</b>					9,4097	8,7512
<b>N85-2124</b>						<b>0,9592</b>
$D_{ii}$ máximo: <b>11,8239</b>						
$D_{ii}$ mínimo: <b>0,9592</b>						

Nota-se que, em relação às distâncias generalizadas de Mahalanobis, diferenças nas medidas de divergência genética foram encontradas. Em relação às distâncias calculadas pela técnica das variáveis canônicas, os progenitores que mais se distanciaram foram os genótipos C2022 e CS92 6602. A menor distância encontrada foi detectada entre os progenitores N85-2124 e N85-2176, condizente com a proximidade dada pela genealogia destes genótipos, que apresentam um ancestral em comum.

Na Figura 4, observa-se a dispersão dos escores obtidos utilizando-se as duas primeiras variáveis canônicas. Pela análise do gráfico, verifica-se que os genótipos BARC-12, N85-2124 e N85-2176 são menos distanciados entre si, embora pelo agrupamento de Tocher o genótipo N85-2124 tenha formado

um grupo a parte. Os genótipos B412113 e CS303 foram localizados mais proximamente, coincidindo com a análise do dendrograma na Figura 3. Os genótipos C2022 e CS92 6602 apresentaram-se como mais divergentes em relação aos demais.



**Figura 4.** Dispersão gráfica dos sete cultivares utilizados em relação às duas primeiras Variáveis Canônicas (VC1 e VC2). Os genitores agrupados por meio das elipses correspondem aos grupos formados pelo método de otimização de Tocher. Os números indicam os genótipos: BARC-12 (1), B412113 (2), C2022 (3), CS303 (4), CS92 6602 (5), N85-2124 (6) e N85-2176 (7)

#### 4.1.3. Divergência Genética por Meio de Marcadores Moleculares SSR

Foram testados 100 pares de primers SSR entre os sete progenitores utilizados no estudo de divergência genética. Destes, 67 apresentaram bandas polimórficas entre os genótipos. Os primers polimórficos identificados foram localizados no mapa genético integrado da soja proposto por CREGAN *et al.* (1999) e indicam que os grupos de ligação da soja foram bem amostrados pelos marcadores microssatélites utilizados no estudo.

As dissimilaridades genéticas dadas pelos marcadores moleculares entre os progenitores foram calculadas utilizando o complemento do coeficiente de coincidência simples (1-CS) aplicáveis a informações de marcas moleculares codominantes e multialélicas. Esta medida caracteriza as

distâncias genéticas entre os progenitores ao nível do DNA. A matriz de dissimilaridades é dada no Quadro 9. Podemos observar que a maior dissimilaridade encontrada foi entre os progenitores BARC-12 e C2022. A menor dissimilaridade foi detectada entre os progenitores CS303 e a linhagem derivada CS92 6602, condizente com a genealogia destas genótipos.

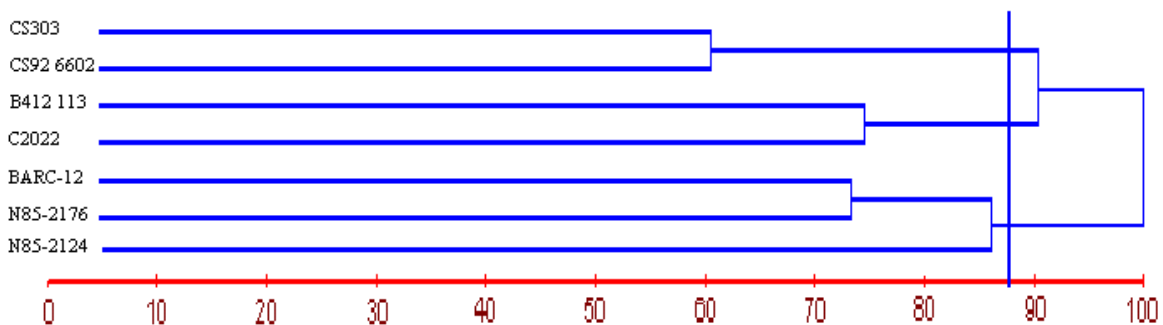
**Quadro 9.** Matriz das dissimilaridades genéticas obtidas pelo complemento do coeficiente de coincidência simples, com base em marcadores moleculares SSR, entre os cultivares de soja BARC-12, B412113, C2022, CS303, CS92 6602, N85-2124 e N85-2176

	<b>B412113</b>	<b>C2022</b>	<b>CS303</b>	<b>CS92 6602</b>	<b>N85-2124</b>	<b>N85-2176</b>
<b>BARC-12</b>	0,6833	<b>0,7627</b>	0,5932	0,6101	0,5645	0,4590
<b>B412113</b>		0,4667	0,5763	0,6333	0,6508	0,7377
<b>C2022</b>			0,6610	0,6780	0,6667	0,6935
<b>CS303</b>				<b>0,3793</b>	0,6721	0,6721
<b>CS92 6602</b>					0,7097	0,6885
<b>N85-2124</b>						0,5937

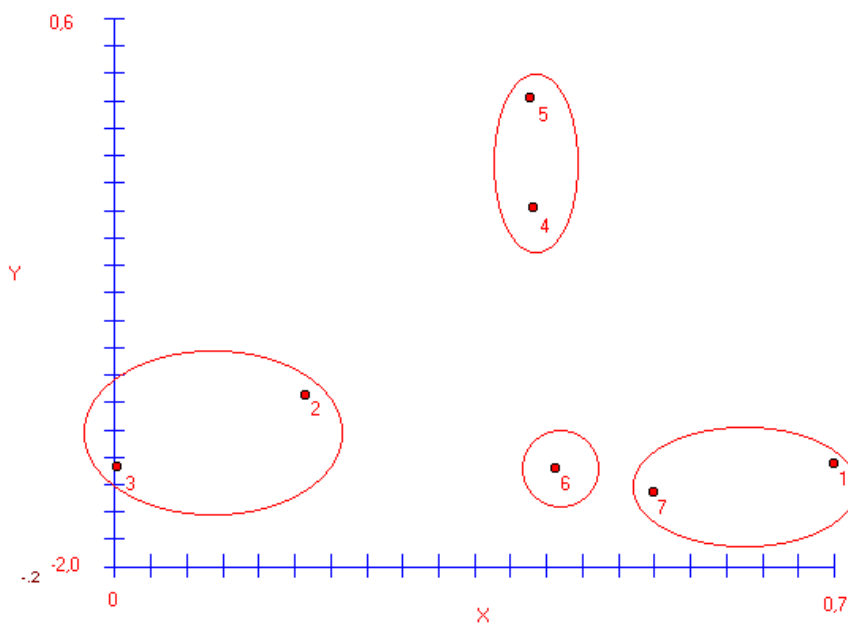
1- CS máximo: **0,7627** (entre os progenitores 1 e 3)  
1- CS mínimo: **0,3793** (entre os progenitores 4 e 5)

Na Figura 5, observa-se o dendrograma elaborado a partir da matriz de dissimilaridades para os dados dos marcadores moleculares, obtido pelo método de ligação média dentro de grupo. Adotou-se como ponto de significância o valor de 0,87 da distância de ligação para a formação dos grupos de genitores. Verifica-se que os progenitores BARC-12, N85-2124 e N85-2176 foram localizados no mesmo grupo e apresentam baixo teor de ácido linolênico. Os progenitores B412113 e C2022 formaram um grupo distinto e, um terceiro grupo, foi formado pelos progenitores CS303 e CS92 6602.

A dispersão das distâncias no plano com base nas medidas de dissimilaridades é mostrada na Figura 6. A formação de grupos pelo método de otimização de Tocher é mostrada por meio de elipses que reúnem os cultivares mais próximos e evidencia a proximidade dos progenitores doadores de alelos para os teores modificados de ácidos graxos, formados pelos genótipos BARC-12, N85-2176 e N85-2124, embora este último tenha se colocado em um grupo a parte. Constatou-se que os genótipos CS303 e CS92 6602 estão localizados mais proximamente e são agrupados em conjunto. Os genótipos B412113 e C2022 são agrupados em conjunto, embora apresentem o teor de ácido linolênico diferenciado.



**Figura 5.** Dendrograma obtido pelo método hierárquico de ligação média dentro de grupos com base nas medidas de dissimilaridade entre cultivares de soja obtidas pelo complemento do coeficiente de coincidência simples



**Figura 6.** Projeção das distâncias no plano com base na matriz de dissimilaridades obtida pelo complemento do coeficiente de coincidência simples. Os genitores agrupados por meio das elipses correspondem aos grupos formados pelo método de otimização de Tocher. Os números indicam os genótipos: BARC-12 (1), B412113 (2), C2022 (3), CS303 (4), CS92 6602 (5), N85-2124 (6) e N85-2176 (7). Stresse: 36%. Correlação entre distâncias originais e estimadas: 0,73

#### 4.1.4. Correlações entre Medidas de Diversidade Genética

A comparação entre os grupos formados pela distância de Mahalanobis e pelas medidas de dissimilaridade molecular pode ser feita a partir das informações dispostas no Quadro 10. Utilizando os métodos de agrupamento de Tocher e o método hierárquico de ligação média dentro de grupos verifica-se que os grupos formados foram bastante coincidentes entre si. Baseado no desempenho dos progenitores com relação aos teores de ácidos graxos e nas distâncias genéticas estimadas, os cruzamentos de maior potencial seriam aqueles realizados entre os grupos 1 e 2. Da mesma forma, MORAES (2003), em um estudo de divergência por meio de marcadores microssatélites, selecionou progenitores para alto conteúdo protéico com base no seu desempenho e nas dissimilaridades genéticas estimadas pelo coeficiente de coincidência simples.

**Quadro 10.** Comparação entre três diferentes medidas de diversidade genética e dois métodos de agrupamento. Os números indicam os genótipos: (1) BARC-12, (2) B412113, (3) C2022, (4) CS303, (5) CS92 6602, (6) N85-2124 e (7) N85-2176

Grupos	Mahalanobis		Dissimilaridade Molecular	
	Tocher	Hierárquico	Tocher	Hierárquico
1	2, 4	2, 4, 5	4, 5	4, 5
2	1, 7	1, 7	1, 7	1, 6, 7
3	3, 6	3, 6	2, 3	2, 3
4	5		6	

**Quadro 11.** Correlações entre as Distâncias Generalizadas de Mahalanobis, Variáveis Canônicas e Dissimilaridade Molecular na avaliação da diversidade genética entre cultivares de soja

	Variáveis Canônicas	Dissimilaridade Molecular
Distâncias de Mahalanobis	0,94484**	0,3799 <sup>ns</sup>
Variáveis Canônicas		0,3850 <sup>ns</sup>

\*\* : Significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.

<sup>ns</sup> : Não significativo.

Procurando verificar o grau de relacionamento entre as metodologias utilizadas foi calculada a correlação de Pearson entre as diferentes estimativas de distâncias. No Quadro 11 estão apresentadas as correlações entre as medidas de divergência genética.

A correlação entre as distâncias generalizadas de Mahalanobis e a análise por variáveis canônicas foi significativa e alta, com um coeficiente

acima de 90%. Este resultado indica um alto grau de correspondência entre as estimativas de distâncias obtidas por estes dois métodos. Como ambas metodologias baseiam-se na matriz de covariâncias residuais existentes entre as médias dos progenitores, este resultado é esperado. Em adição, espera-se que na obtenção das variáveis canônicas, estas expliquem boa parte da variância existente nas variáveis originais, para que o grau de distorção seja menos influente na determinação das distâncias. O grau de distorção obtido para a transformação dos dados na análise por variáveis canônicas foi de 14%, o que pode explicar a alta correlação entre as duas medidas de distâncias.

A importância relativa dos caracteres na determinação da divergência genética também parece explicar o alto grau de correlação entre as medidas de Mahalanobis e a técnica de variáveis canônicas. Uma vez que os teores de ácido oléico e linolênico contribuem com cerca de 67%, de acordo com o método de SINGH (1991), na determinação das distâncias generalizadas de Mahalanobis, espera-se que a projeção no plano seja menos distorcida se comparada a uma situação em que houvesse uma maior participação de três ou mais variáveis nas estimativas das distâncias.

As medidas de dissimilaridade estimadas por meio de marcadores moleculares não foram significativamente correlacionadas com as medidas obtidas na análise por meio de variáveis canônicas ou por meio das distâncias generalizadas de Mahalanobis (Quadro 11). Este fato pode ser explicado pela distribuição dos marcadores moleculares nos grupos de ligação do mapa da soja. Como os marcadores localizaram-se de forma generalizada ao longo do genoma, é pouco provável que os primers utilizados estejam ligados a locos que controlem o conteúdo de ácidos graxos. Espera-se, portanto, que o pool genético amostrado na técnica das variáveis canônicas e nas distâncias de Mahalanobis, baseados em caracteres quantitativos, seja diferente daquele acessado pelos marcadores moleculares.

Embora as correlações entre as distâncias baseadas em dados quantitativos e aquelas baseadas em dados moleculares não sejam significativas, a definição de grupos pelos métodos de agrupamento, com base nas matrizes de distâncias, foram suficientes para discriminar de maneira semelhante as maiores diferenças entre os progenitores.

Sugere-se para um trabalho futuro, a utilização de regressão step-wise com o objetivo de se identificar os marcadores que sejam mais influentes na determinação do teor de ácidos graxos. Espera-se com esta estratégia que as distâncias estimadas com base em marcadores ligados ao conteúdo de ácido graxo possam apresentar maiores correlações com as medidas de distância estimadas por meio dos teores de ácidos graxos.

## **4.2. Análise Dialélica de Pais, Sementes F<sub>1</sub> e Recíprocos**

A análise dialélica a partir da análise individual de sementes foi realizada com base nos seguintes progenitores: B412113 (1), C2022 (2), CS303 (3), CS92 6602 (4), N85-2124 (5) e N85-2176 (6). Como nem todas as combinações de cruzamentos realizados com o progenitor BARC-12 foram obtidas, optou-se por descartar este genótipo, sendo, portanto, utilizados somente os seis progenitores restantes.

### **4.2.1. Análise de Variância e Determinação do Coeficiente de Repetibilidade**

Os resultados da análise de variância com base nas sementes individuais dos pais, sementes F<sub>1</sub> e recíprocos estão apresentados no Quadro 12. Para todos os caracteres avaliados verificou-se a significância dos efeitos dos genótipos nas médias das observações, indicando haver substancial variabilidade genética entre os genótipos avaliados. Os coeficientes de variação experimental foram similares àqueles apresentados no estudo de divergência genética entre os pais, quando foram utilizados bulks de sementes na determinação dos teores de ácidos graxos. Os demais parâmetros também foram coincidentes, indicando uma boa precisão experimental e certa correspondência entre os valores observados para as sementes individuais com relação aos bulks de sementes.

De acordo com CRAMER *et al.* (1981), extensa variabilidade entre sementes de diferentes partes da planta tornam menos efetiva a seleção de genótipos com base em sementes individuais. Para que fosse avaliada a variação posicional das sementes na planta mãe, uma vez que se utilizou a análise de sementes individuais nos procedimentos estatísticos, estimou-se o coeficiente de repetibilidade procurando-se verificar o grau de determinação neste tipo de amostragem, bem como inferir o número mínimo de sementes a serem avaliadas. Os coeficientes de repetibilidade para cada ácido graxo foram determinados com base na análise de cinco sementes por genótipo avaliado.

Os dados das análises de sementes individuais apresentaram alto coeficiente de repetibilidade para os teores de todos os ácidos graxos, quando se utilizou um número de cinco repetições por genótipo (Quadro 13). Para todas as características avaliadas, as magnitudes dos coeficientes de repetibilidade foram altas, indicando que a variação proporcionada pelo efeito

de posição das sementes na planta mãe foi pouco significativa na determinação da variação total. Embora HAWKINS *et al.* (1983b), por meio de estimativas de herdabilidades, tenham concluído que a análise baseada em sementes individuais é menos eficiente, verifica-se no presente trabalho, que a análise individual foi suficiente para a determinação das diferenças entre os tratamentos.

**Quadro 12.** Valores e significâncias dos Quadrados Médios (QM), Médias e Coeficientes de Variação Experimental (CV) e de Determinação Genotípica ( $h^2$ ), obtido da análise de variância no delineamento inteiramente casualizado, utilizando pais, progênies  $F_1$  e os recíprocos, para os teores de ácido palmítico (16:0), ácido esteárico (18:0), ácido oléico (18:1), ácido linoléico (18:2) e ácido linolênico (18:3) em soja

FV	GL	Quadrados Médios				
		16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
<b>Genótipos</b>	35	3,6263**	2,1983**	685,5473 **	435,5327 **	16,0856**
<b>Resíduo</b>	144	0,2450	0,0726	18,7686	12,1481	0,4455
<b>Média</b>		10,7758	2,8897	27,2881	53,5510	5,5154
<b>CV (%)</b>		4,5926	9,3218	15,8760	6,5086	12,1017
<b>H<sup>2</sup></b>		93,2460	96,6993	97,2623	97,2107	97,2304
<b>CVg/CV (%)</b>		1,6617	2,4206	2,6656	2,6401	2,6498

\*\* P<0,01

Ainda no Quadro 13, são apresentados os coeficientes de determinação referentes ao número de repetições utilizados no experimento. Para todos os caracteres, foi estimada alta determinação, indicando grande precisão na predição dos valores reais de cada tratamento. Com base nos coeficientes de repetibilidade e nos valores dos coeficientes de determinação, conclui-se que houve boa regularidade ao se utilizar o número de cinco repetições para caracterização de cada genótipo no experimento. Estes resultados não são coincidentes com as conclusões de HAMMOND & FEHR (1975). Segundo estes autores, amostras de sementes com número de repetições igual ou menor do que 10 não são suficientes para eliminar a variação semente-a-semente. Ressalta-se, no entanto, que o coeficiente de repetibilidade é uma medida que varia de acordo com a natureza do caráter, as propriedades

genéticas da população e com as condições de ambiente sob as quais os indivíduos são mantidos (CRUZ & REGAZZI, 1997).

**Quadro 13.** Coeficientes de Repetibilidade e de Determinação obtidos da análise de variância dos dados de sementes individuais dos pais, progênies F<sub>1</sub> e recíprocos, em cinco repetições, para os teores de ácidos graxos em soja

Ácido Graxo	Coefficiente de Repetibilidade	Determinação (%)
Palmítico (16:0)	0,7346	93,2623
Esteárico (18:0)	0,8523	96,6498
Oléico (18:1)	0,8749	97,2188
Linoléico (18:2)	0,8733	97,1806
Linolênico (18:3)	0,8729	97,1702

Embora os resultados do presente experimento indiquem ser possível a análise de sementes individuais na caracterização dos tratamentos, não é recomendada a utilização deste tipo de amostragem em processos seletivos. Deve-se lembrar que os genótipos maternos utilizados são linhagens que apresentam alta estabilidade genotípica, o que pode minimizar os efeitos de posição avaliados, ou mesmo os efeitos de interação entre o genótipo do embrião e o genótipo materno. Nesta mesma linha, segue o trabalho de BRIM *et al.* (1968), que verificaram não ser recomendável a utilização de análise individual de sementes F<sub>2</sub> a partir de plantas F<sub>1</sub>, principalmente devido aos efeitos do genótipo materno, na avaliação dos teores de ácido linolênico. Em adição, trabalhos indicam ser mais efetiva a seleção de genótipos superiores para os teores de ácidos graxos, com base na análise de plantas individuais (WILSON *et al.*, 1981).

Por meio do procedimento de Scott e Knott as médias dos tratamentos foram agrupadas conforme mostrado no Quadro 14. Verifica-se uma maior homogeneidade das médias com relação aos grupos em que se encontram, quando são considerados os cruzamentos envolvendo um determinado genótipo materno na formação dos híbridos. Por exemplo, nos cruzamentos envolvendo como genótipo materno o progenitor B412113 (1) e os demais progenitores, as médias para o teor de ácido oléico foram agrupadas

conjuntamente e, para os teores de ácido linolênico, as médias observadas foram agrupadas em três diferentes grupos. Este fato sugere a influência do genótipo materno na determinação do comportamento dos híbridos. Em análises posteriores, apresentadas neste mesmo estudo, será possível verificar com maior clareza os efeitos do genótipo materno sobre as médias dos híbridos.

**Quadro 14.** Valores médios dos teores de ácido palmítico (16:0), ácido esteárico (18:0), ácido oléico (18:1), ácido linoléico (18:2) e ácido linolênico (18:3) para os pais, progênies F<sub>1</sub> e os recíprocos. As médias foram agrupadas conforme procedimento de Scott e Knott, a 5% de probabilidade

Genótipos	Ácidos Graxos				
	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
<b>1. B412113</b>	11,0346 b	3,9248 a	15,4842 g	61,2561 a	8,3164 a
<b>2. C2022</b>	11,0071 b	3,4634 a	21,8528 f	59,6803 a	3,9836 e
<b>3. CS303</b>	11,2271 a	3,2784 b	18,8442 g	58,4135 b	8,2246 a
<b>4. CS92 6602</b>	11,2053 a	2,5396 d	23,6037 f	53,9760 c	8,6756 a
<b>5. N85-2124</b>	11,0164 b	2,5925 d	26,5502 e	55,7132 b	4,1276 e
<b>6. N85-2176</b>	8,9849 d	2,2767 e	47,6667 b	37,8721 f	3,2131 f
<b>1x2</b>	11,0723 b	3,7521 a	17,4777 g	61,6608 a	6,0433 c
<b>1x3</b>	11,3128 a	3,8619 a	16,7642 g	60,7142 a	7,3469 b
<b>1x4</b>	11,7961 a	3,5367 a	16,8072 g	60,7633 a	7,0967 b
<b>1x5</b>	12,0996 a	3,2185 b	19,4500 g	59,9077 a	5,3249 d
<b>1x6</b>	11,0282 b	3,3602 b	18,3706 g	61,5293 a	5,7117 d
<b>2x1</b>	11,6558 a	3,8216 a	16,6964 g	61,5228 a	6,3034 c
<b>2x3</b>	11,4756 a	3,558 a	17,6928 g	61,0040 a	6,0687 c
<b>2x4</b>	11,6919 a	3,0875 c	22,9842 f	56,6975 b	5,5388 d
<b>2x5</b>	11,333 a	3,3857 b	20,7585 f	61,4000 a	3,8151 e
<b>2x6</b>	10,7312 b	3,4216 b	22,8018 f	59,3307 a	3,7147 e
<b>3x1</b>	11,4131 a	3,7093 a	17,4311 g	59,5357 a	7,9108 a
<b>3x2</b>	10,8333 b	3,6382 a	18,1643 g	61,9539 a	5,4103 d
<b>3x4</b>	11,3388 a	3,1326 c	18,8122 g	58,5029 b	8,2134 a
<b>3x5</b>	11,0345 b	3,1385 c	22,5328 f	57,2927 b	6,0015 c
<b>3x6</b>	10,5053 b	2,8617 c	23,6240 f	57,3586 b	5,6505 d
<b>4x1</b>	10,7304 b	3,1262 c	19,3908 g	58,7606 b	7,9920 a

Continuação Quadro 14

<b>4x2</b>	10,5522 b	3,0069 c	25,8571 e	53,3887 c	7,1949 b
<b>4x3</b>	10,3900 b	2,7048 d	27,1004 e	51,8541 c	7,9514 a
<b>4x5</b>	10,4474 b	2,2499 e	32,8419 d	49,0629 d	5,4020 d
<b>4x6</b>	9,9606 c	2,7052 d	26,4989 e	55,7078 b	5,1816 d
<b>5x1</b>	11,5777 a	2,3420 e	29,9773 d	51,5226 c	4,5804 d
<b>5x2</b>	11,5039 a	2,1762 e	28,6667 e	54,1626 c	3,4906 e
<b>5x3</b>	10,0588 c	2,1897 e	34,6616 d	48,7665 d	4,3244 e
<b>5x4</b>	11,4843 a	1,9262 f	32,4244 d	48,6572 d	5,5080 d
<b>5x6</b>	11,1011 b	2,2968 e	25,9421 e	57,2190 b	3,4609 e
<b>6x1</b>	9,2518 d	2,0044 f	54,9239 a	29,9329 g	4,0870 e
<b>6x2</b>	9,1419 d	2,0357 f	50,6951 a	35,4082 g	2,6588 f
<b>6x3</b>	9,1138 d	1,9133 f	52,9220 a	32,5682 g	3,4827 e
<b>6x4</b>	9,8221 c	1,9531 f	41,7574 c	55,7078 b	4,0823 e
<b>6x5</b>	8,9975 d	1,8382 f	54,3425 a	51,5226 c	2,4674 f

#### 4.2.2. Análise Dialélica pela Metodologia de GRIFFING (1956)

Os dados provenientes das 36 combinações obtidas nos cruzamentos entre os seis progenitores utilizados, foram analisados segundo o modelo 1 do método 1 de GRIFFING (1956), que envolve a utilização dos progenitores, híbridos  $F_1$  e recíprocos.

No Quadro 15, estão apresentados os resultados da análise de variância segundo o modelo de GRIFFING (1956) para todos os caracteres avaliados. Nesta análise, a soma de quadrados de tratamentos é desdobrada na soma de quadrados para a capacidade geral de combinação (CGC), capacidade específica de combinação (CEC) e efeito recíproco (ER). Verificou-se a significância dos efeitos da CGC, CEC e ER para todos os teores de ácidos graxos, pelo teste F, com probabilidade de 1%. Efeitos significativos para a CGC, CEC e ER também foram detectados em cruzamentos recíprocos de milho para características físico-químicas dos grãos (ALIKA & OJOMO, 1996)

As estimativas dos componentes quadráticos, também dispostas no Quadro 15, expressam a variabilidade genética dos progenitores com relação aos efeitos de CGC ( $\hat{\Phi}_g$ ), CEC ( $\hat{\Phi}_s$ ) e ER ( $\hat{\Phi}_{rc}$ ). Os componentes apresentados sugerem uma predominância dos efeitos da Capacidade Geral de Combinação (CGC) em relação à Capacidade Específica de Combinação (CEC). Pode-se verificar este fato analisando-se também a razão  $\hat{\Phi}_g : \hat{\Phi}_s$ . Para todos os ácidos graxos avaliados, os efeitos gerais são preponderantes em relação aos efeitos específicos. Sugere-se, portanto, que os efeitos de genes aditivos são substancialmente mais importantes que outro tipo de ação gênica expressa na variação dos teores de ácidos graxos. Para o teor do ácido oléico, verifica-se uma concentração acentuada de variabilidade nos efeitos recíprocos, indicando haver significativa influência dos cruzamentos recíprocos, provavelmente fruto da influência do genótipo materno na expressão do caráter. Em relação ao ácido linolênico, o componente quadrático associado à CGC apresentou uma maior magnitude se comparado aos demais, sugerindo também maior participação dos efeitos de genes aditivos na determinação da variabilidade genética para o este ácido graxo.

A significância dos efeitos da CGC indica que pelo menos um dos progenitores, dos seis utilizados no estudo, difere dos demais com relação à

concentração de alelos favoráveis para os teores de ácidos graxos, qualquer que seja o efeito de dominância desses genes ou alelos (VENCOVSKY & BARRIGA, 1992). A presença de efeitos significativos na CGC foi relatada para diversas características agrônômicas na soja, da mesma maneira ocorrendo para o teor de proteína em sementes, uma característica bioquímica (PIOVESAN, 2000). O fato de existir variabilidade genética com relação à presença de alelos favoráveis de efeito aditivo pressupõe ser possível a utilização de métodos de seleção com base na CGC, como o método de seleção recorrente ou o método de retrocruzamentos (ALLARD, 1971; ALIKA & OJOMO, 1996).

**Quadro 15.** Análise de variância para capacidade geral de combinação (CGC), capacidade específica de combinação (CEC) e efeito recíproco (ER) para os teores de ácido palmítico (16:0), esteárico (18:0), oléico (18:1), linoléico (18:2) e linolênico (18:3), segundo o método 1 do modelo 1 de GRIFFING (1956). Os componentes quadráticos associados aos efeitos do modelo também são apresentados.

FV	GL	Quadrados Médios				
		16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
<b>Tratamento</b>	35	3,6263**	2,1982**	685,5490**	435,5326**	16,0856**
<b>CGC</b>	5	14,4658**	9,8839**	2389,6919**	1272,8150**	98,1409**
<b>CEC</b>	15	0,5580**	0,3241**	66,7997**	52,3124**	1,7256**
<b>E. Recíproco</b>	15	3,0815**	1,5105**	736,2506**	539,6585**	3,0942**
<b>Resíduo</b>	144	0,2449	0,0726	18,7686	12,1481	0,4455
$\hat{\Phi}_g : \hat{\Phi}_s$		3,7859	3,2505	4,1135	2,6156	6,3605
$\hat{\Phi}_g : \hat{\Phi}_{rc}$		0,8354	1,1370	0,5508	0,3983	6,1468
$\hat{\Phi}_g$		0,2370	0,1635	39,5154	21,0111	1,6283
$\hat{\Phi}_s$		0,0626	0,0503	9,6062	8,0329	0,2560
$\hat{\Phi}_{rc}$		0,2837	0,1438	71,7482	52,7510	0,2649

\*\* P<0,01

Como os efeitos de CEC foram significativos, em pelo menos um dos cruzamentos obtidos, espera-se a influência dos desvios de dominância na

expressão dos caracteres, ou qualquer tipo de ação gênica não-aditiva. Em outras palavras, deve haver um certo grau de complementação gênica entre os progenitores avaliados, principalmente com relação aos locos que apresentam alguma dominância (VENCOVSKY & BARRIGA, 1992). Pode-se entender a CEC como o desvio do desempenho de um cruzamento particular em relação à média da capacidade geral de combinação das duas linhas parentais envolvidas (FALCONER & MACKAY, 1996). Estes desvios, como mencionado, são devidos aos efeitos gênicos não-aditivos.

A influência do efeito recíproco é marcante nos cruzamentos híbridos entre os progenitores testados, sugerindo haver influência do genótipo materno (BRIM *et al.*, 1968). Como a magnitude do efeito recíproco foi substancial na variação observada, deve-se levar em consideração este componente em etapas posteriores em programas de melhoramento. Verifica-se para o teor de ácido oléico, que o efeito recíproco foi mais pronunciado, em contraste com o teor de ácido linolênico, que apresentou maior influência dos efeitos da capacidade geral de combinação.

As estimativas dos efeitos da capacidade geral de combinação ( $\hat{g}_i$ ) para cada progenitor são apresentados no Quadro 16. As estimativas de ( $\hat{g}_i$ ) fornecem importantes informações acerca dos progenitores utilizados, como a concentração de alelos predominantemente aditivos em seus efeitos, bem como a direção dos efeitos gênicos na expressão das características (CRUZ & REGAZZI, 1997). Para o ácido oléico, verificou-se que o progenitor N85-2176, seguido pelo progenitor N85-2124, apresentaram as maiores estimativas para os efeitos de capacidade geral de combinação. Dessa forma, depreende-se que os genótipos N85-2176 e N85-2124 apresentam as melhores contribuições para o aumento do teor de ácido oléico, dentre os genótipos avaliados. Como comentado, genótipos com teores superiores de ácido oléico são desejados para ganhos na qualidade e estabilidade do óleo, sendo portanto os progenitores N85-2176 e N85-2124 os mais indicados para o estabelecimento de populações base para a melhora da qualidade do óleo.

Considerando-se que é desejável, da mesma forma, a obtenção de genótipos com teores reduzidos de ácido linolênico, foram analisadas as estimativas de  $\hat{g}_i$ . Pelo Quadro 16 observa-se que, para os genótipos N85-

2176 e N85-2124, foram encontradas também as menores estimativas dos efeitos de capacidade geral de combinação. As estimativas, de sentido negativo, indicam serem estes genótipos os mais favoráveis para a obtenção de populações segregantes, objetivando-se a obtenção de ganhos genéticos para a redução do teor de ácido linolênico.

**Quadro 16.** Estimativas dos efeitos de capacidade geral de combinação ( $\hat{g}_i$ ), com os respectivos desvios-padrões e as respectivas médias, para os teores de ácido palmítico (16:0), esteárico (18:0), oléico (18:1), linoléico (18:2) e linolênico (18:3), de acordo com o método 1 do modelo 1 de GRIFFING (1956)

Efeitos ( $\hat{g}_i$ )	Ácido Graxo				
	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
1. B412 113 ( $\hat{g}_1$ )	0,3914	0,4922	-5,7666	3,8125	1,0704
2. C2022 ( $\hat{g}_2$ )	0,2246	0,3445	-3,4964	3,6065	-0,6650
3. CS303 ( $\hat{g}_3$ )	0,0517	0,2157	-3,3386	1,9805	1,0520
4. CS926602 ( $\hat{g}_4$ )	0,1095	-0,1807	-1,3146	0,0933	1,2772
5. N85-2124 ( $\hat{g}_5$ )	0,1967	-0,3941	<b>2,2709</b>	-0,9033	<b>-1,1296</b>
6. N85-2176 ( $\hat{g}_6$ )	-0,9739	-0,4777	<b>11,6463</b>	-8,5895	<b>-1,6051</b>
<b>DP (<math>\hat{g}_i</math>)</b>	0,0583	0,0317	0,5106	0,4108	0,0787
<b>DP (<math>\hat{g}_i - \hat{g}_j</math>)</b>	0,0904	0,0492	0,7910	0,6363	0,1219
<b><math>\hat{m}</math></b>	10,7758	2,8897	27,2881	53,5510	5,5154

Os efeitos da capacidade específica de combinação ( $\hat{s}_{ij}$ ) estimados para os cinco ácidos graxos avaliados estão dispostos no Quadro 17. Observa-se também as estimativa dos efeitos específicos para cada progenitor ( $\hat{s}_{ii}$ ). As estimativas de ( $\hat{s}_{ii}$ ) são consideradas importantes indicadores da existência, ou não, de dominância unidirecional (CRUZ & VENCOSKY, 1989). A magnitude dos valores de ( $\hat{s}_{ii}$ ) é um indicador da divergência genética de cada progenitor, em relação à média dos outros progenitores testados no dialelo. Verifica-se,

para os dados apresentados, que os progenitores N85-2176 e N85-2124 apresentaram as maiores magnitudes se comparados aos demais, em especial para os teores de ácido oléico e linolênico. Estes resultados indicam serem os genótipos citados mais divergentes em relação aos demais progenitores, e estão de acordo com os dados observados no estudo de divergência.

Os valores de  $(\hat{s}_{ii})$  também referem-se à direção dos desvios observados em combinações híbridas, envolvendo os respectivos progenitores. Valores de  $(\hat{s}_{ii})$  negativos indicam a existência de desvio unidirecional positivo, e conseqüentemente a expressão de heterose positiva. Assim, nas combinações híbridas envolvendo os progenitores N85-2176 e N85-2124 com os demais, espera-se que haja a manifestação de efeito heterótico positivo nos híbridos, se for considerado o teor de ácido oléico. A mesma análise pode ser feita para o teor de ácido linolênico. No entanto, para este caráter, verificou-se um valor positivo das estimativas de  $(\hat{s}_{ii})$ , indicando que as combinações híbridas derivadas dos progenitores N85-2176 e N85-2124, tendem a apresentar efeito heterótico negativo.

Tendo por base um programa de retrocruzamentos, verifica-se que os progenitores N85-2176 e N85-2124 são os mais recomendados como fontes doadoras de genes para o aumento de ácido oléico e a redução de ácido linolênico, por apresentarem melhores estimativas de efeitos de CGC. Com base nas estimativas de distâncias genéticas entre estes progenitores e os demais, verifica-se que os cruzamentos mais recomendados são aqueles que envolvem como progenitores recorrentes os cultivares B412113, CS92 6602 e CS303.

Com relação aos valores de  $(\hat{s}_{ij})$ , verifica-se que as melhores combinações observadas, para o teor de ácido oléico, foram entre os progenitores CS92 6602 (4) e N85-2124 (5), que apresentou maior estimativa, e entre os progenitores B412113 (1) e N85-2176 (6). Para o teor de ácido linolênico, tendo em vista que se deseja reduzir o teor deste ácido graxo, as melhores combinações selecionadas foram entre os progenitores CS92 6602 (4) e N85-2176 (6), que apresentou a menor estimativa, e entre os progenitores B412113 (1) e N85-2124 (5).

Quando são selecionadas combinações híbridas com base na CEC, devem-se indicar aqueles cruzamentos que envolvam progenitores com maior concentração de alelos favoráveis ou, em outras palavras, que apresentem maior capacidade geral de combinação (CRUZ & REGAZZI, 1997). Os cruzamentos recomendados atingem este objetivo, pois pelo menos um dos progenitores em cada cruzamento possui alta capacidade geral de combinação (N85-2124 e N85-2176). Em adição, nos cruzamentos recomendados, foram incluídas linhagens de alto desempenho agrônômico e adaptadas às condições de cultivo brasileiras (CS92 6602 e B412113). Para espécies autógamas, como o caso da soja, há também o interesse em se recomendar cruzamentos que envolvam progenitores que tenham ambos, alta CGC, uma vez que o objetivo é a obtenção de linhagens com alta concentração de alelos favoráveis. Dessa forma, o cruzamento mais recomendado é entre os progenitores N85-2124 (5) e N85-2176 (6). Uma desvantagem desta combinação é que ela envolve apenas genótipos doadores de características desejáveis para o conteúdo de ácidos graxos mas com baixo desempenho agrônômico, além de apresentarem pequena divergência genética entre si, indicando uma baixa complementação gênica.

As estimativas dos efeitos recíprocos ( $\hat{r}_{ij}$ ), apresentadas no Quadro 18, permitem indicar, nos cruzamentos recomendados, os efeitos do genótipo materno e paterno, uma vez que os efeitos de capacidade específica de combinação não especificam qual dos progenitores deverá ser utilizado como macho ou fêmea. No presente estudo, o genótipo materno é representado pelo índice “i” e o genótipo paterno é representado pelo índice “j”. Analisando-se os cruzamentos selecionados pela capacidade específica de combinação, verifica-se que os progenitores N85-2124 e N85-2176 são mais efetivos como progenitores maternos na obtenção de populações segregantes. Entretanto, para a combinação entre os progenitores CS92 6602 (4) e N85-2124 (5) a preferência é a utilização do cultivar CS92 6602 como progenitor materno.

**Quadro 17.** Estimativas dos efeitos de capacidade específica de combinação ( $\hat{s}_{ij}$ ), com os respectivos desvios-padrões e as respectivas médias, para os teores de ácido palmítico (16:0), esteárico (18:0), oléico (18:1), linoléico (18:2) e linolênico (18:3), de acordo com o método 1 do modelo 1 de GRIFFING (1956).

Efeitos ( $\hat{s}_{ij}$ )	Ácidos Graxos				
	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
$\hat{s}_{11}$	-0,5241	0,0507	-0,2706	0,0801	0,6602
$\hat{s}_{22}$	-0,2179	-0,1153	1,5575	-1,0837	-0,2019
$\hat{s}_{33}$	0,3479	-0,0427	-1,7667	0,9015	0,6051
$\hat{s}_{44}$	0,2105	0,0112	-1,0552	0,2383	0,6057
$\hat{s}_{55}$	-0,1529	0,4911	-5,2781	3,9689	0,8713
$\hat{s}_{66}$	0,1569	0,3424	-2,9138	1,5000	0,9079
$\hat{s}_{12}$	-0,0278	0,0605	-0,9380	0,6218	0,2524
$\hat{s}_{13}$	0,1440	0,1880	-1,0852	0,7810	-0,0090
$\hat{s}_{14}$	-0,0135	0,1302	-2,1079	2,3051	-0,3187
$\hat{s}_{15}$	0,4747	-0,2075	0,9221	-0,7450	-0,5036
$\hat{s}_{16}$	-0,0534	-0,2219	3,4796	-3,0429	-0,0814
$\hat{s}_{23}$	0,1023	0,1482	-2,5245	2,3410	-0,1630
$\hat{s}_{24}$	0,0121	-0,0063	1,9436	-2,2077	0,2391
$\hat{s}_{25}$	0,2214	-0,0591	-1,3492	1,5272	-0,0681
$\hat{s}_{26}$	-0,0899	-0,0278	1,3106	-1,1986	-0,0586
$\hat{s}_{34}$	-0,0726	-0,0060	0,3214	-0,4463	0,2377
$\hat{s}_{35}$	-0,4776	-0,0472	2,3776	-1,5986	-0,2750
$\hat{s}_{36}$	-0,0441	-0,2402	2,6773	-1,9786	-0,3958
$\hat{s}_{45}$	-0,1162	-0,2269	4,3896	-3,8810	-0,2081
$\hat{s}_{46}$	-0,0201	0,0978	-3,4916	3,9916	-0,5556
$\hat{s}_{56}$	0,0507	0,0496	-1,0621	0,7285	0,1834
<b>DP (<math>\hat{s}_{ii}</math>)</b>	0,1330	0,0724	1,1643	0,9367	0,1794
<b>DP (<math>\hat{s}_{ii}</math>)</b>	0,1844	0,1004	1,6145	1,2989	0,2488
<b>DP (<math>\hat{s}_{ii} - \hat{s}_{jj}</math>)</b>	0,2556	0,1391	2,2372	1,7999	0,3447
<b>DP (<math>\hat{s}_{ii} - \hat{s}_{ij}</math>)</b>	0,2557	0,1391	2,2372	1,7999	0,3447
<b>DP (<math>\hat{s}_{ii} - \hat{s}_{jk}</math>)</b>	0,2213	0,1205	1,9375	1,5587	0,2985
<b>DP (<math>\hat{s}_{ii} - \hat{s}_{ik}</math>)</b>	0,2020	0,1099	1,7686	1,4229	0,2725
<b>DP (<math>\hat{s}_{ij} - \hat{s}_{kl}</math>)</b>	0,1808	0,0984	1,5819	1,2727	0,2437

**Quadro 18.** Estimativas dos efeitos recíprocos ( $\hat{r}_{ij}$ ), com os respectivos desvios-padrões e as respectivas médias, para os teores de ácido palmítico (16:0), esteárico (18:0), oléico (18:1), linoléico (18:2) e linolênico (18:3), de acordo com o método 1 do modelo 1 de GRIFFING (1956).

Efeitos ( $\hat{r}_{ij}$ )	Ácidos Graxos				
	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
$\hat{r}_{12}$	-0,2918	-0,0348	0,3907	0,0690	-0,1301
$\hat{r}_{13}$	-0,0502	0,0763	-0,3335	0,5893	-0,2820
$\hat{r}_{14}$	0,5329	0,2053	-1,2918	1,0014	-0,4477
$\hat{r}_{15}$	0,2610	0,4383	-5,2637	4,1926	0,3723
$\hat{r}_{16}$	0,8882	0,6779	-18,2767	15,7982	0,8124
$\hat{r}_{23}$	0,3212	-0,0401	-0,2358	-0,4750	0,3292
$\hat{r}_{24}$	0,5699	0,0403	-1,4365	1,6544	-0,8281
$\hat{r}_{25}$	-0,0855	0,6048	-3,9541	3,6187	0,1623
$\hat{r}_{26}$	0,7947	0,6930	-13,9467	11,9613	0,5280
$\hat{r}_{34}$	0,4744	0,2139	-4,1441	3,3244	0,1310
$\hat{r}_{35}$	0,4879	0,4744	-6,0644	4,2631	0,8386
$\hat{r}_{36}$	0,6958	0,4742	-14,6490	12,3952	1,0839
$\hat{r}_{45}$	-0,5185	0,1619	0,2088	0,2029	-0,0530
$\hat{r}_{46}$	0,0693	0,3761	-7,6293	6,6614	0,5497
$\hat{r}_{56}$	1,0518	0,2293	-14,2002	12,4323	0,4968
<b>DP (<math>\hat{r}_{ij}</math>)</b>	0,1565	0,0852	1,3700	1,1022	0,2111
<b>DP (<math>\hat{r}_{ij} - \hat{r}_{kl}</math>)</b>	0,2213	0,1205	1,9375	1,5587	0,2985

#### 4.2.3. Análise Dialélica pela Metodologia de COCKERHAM & WEIR (1977)

Procurando-se avaliar, bem como quantificar, a influência dos efeitos recíprocos nos comportamentos dos híbridos, utilizou-se a análise dialélica com base na metodologia de COCKERHAM & WEIR (1977). Neste tipo de análise, são considerados dois modelos genéticos. No modelo 1, que assemelha-se ao modelo de GRIFFING (1956), o desempenho dos híbridos e recíprocos é explicado pela CGC e CEC, sendo o efeito recíproco decomposto em um efeito de ordem geral, associado ao comportamento médio dos híbridos nos cruzamentos em relação aos progenitores  $i$  e  $j$ , e um efeito específico, que se manifesta no  $ij$ -ésimo cruzamento. No modelo 2, denominado modelo biológico, o desempenho dos híbridos é explicado pela ação de genes nucleares, extranucleares e da interação entre eles.

Como a análise neste modelo é efetuada através dos dados dos híbridos  $F_1$ 's e recíprocos, excluindo-se os pais, realizou-se uma nova análise de variância para os dados a serem utilizados na metodologia de COCKERHAM & WEIR (1977). Os resultados da análise de variância para todos os caracteres são apresentados no Quadro 19. Como houve significância para todos os caracteres avaliados, torna-se possível a decomposição das soma de quadrados de genótipos, nos efeitos dos modelos adotados na metodologia de COCKERHAM & WEIR (1977).

**Quadro 19.** Valores e significâncias dos Quadrados Médios (QM), Médias e Coeficientes de Variação Experimental (CV) obtido da análise de variância no delineamento inteiramente casualizado, utilizando progênies  $F_1$  e os recíprocos, para os teores de ácido palmítico (16:0), ácido esteárico (18:0), ácido oléico (18:1), ácido linoléico (18:2) e ácido linolênico (18:3). (\*\* $P < 0,01$ )

FV	GL	Quadrados Médios				
		16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
Genótipos	29	3,7257**	2,2813**	711,3960**	461,4512**	13,3549**
Resíduo	120	0,2594	0,0783	20,5444	13,2794	0,4676
Média		10,7818	2,8651	27,6123	53,3642	5,4005
CV (%)		4,7238	9,7695	16,4151	6,8287	12,6621

A análise de variância segundo a metodologia de COCKERHAM & WEIR (1977), é mostrada no Quadro 20. Os efeitos da capacidade geral de combinação foram significativos para todos os caracteres avaliados, em acordo com a análise dialélica efetuada pela metodologia de GRIFFING (1956).

Observa-se para o ácido palmítico que o efeito de capacidade específica de combinação foi não significativo, em contraste com análise realizada por meio da metodologia de GRIFFING (1956). No modelo 1, verificamos que os efeitos de reciprocidade dos híbridos, para esta característica, estão concentrados no efeito recíproco geral ( $\hat{S}_{rg}^2$ ). No modelo biológico, o efeito recíproco geral refere-se à interação de efeitos extranucleares de origem materna e paterna ( $\hat{S}_m^2 + \hat{S}_p^2$ ). Neste caso, há a participação, na expressão deste ácido graxo, de interações de ordem extranuclear entre os progenitores utilizados.

Para o teor de ácido esteárico e oléico, houve significância de todos os efeitos do modelo 1, exceto para o efeito recíproco específico ( $\hat{S}_{rs}^2$ ). Comparando-se ao modelo biológico, o efeito recíproco específico pode ser entendido como fruto da interação dos efeitos extranucleares com os efeitos nucleares, indicando, portanto, a ausência de interações deste tipo na expressão dos teores de ácido esteárico e oléico. No entanto, verifica-se significativa contribuição dos efeitos maternal e paternal extranucleares ( $\hat{S}_m^2 + \hat{S}_p^2$ ).

Como houve significância para o efeito recíproco geral quanto ao teor de ácido oléico, foram testados os contrastes  $\bar{y}_i$  vs  $\bar{y}_i$  para comparar as médias dos cruzamentos do genitor i usado como fêmea e como macho, por meio do teste de Scheffé (Quadro 21). Verifica-se que os progenitores B412113, CS303 e N85-2176 apresentaram contrastes significativos, indicando haver influência mais pronunciada dos genótipos materno e paterno nos cruzamentos que envolvam estes genótipos.

**Quadro 20.** Análise de variância para capacidade geral de combinação (CGC), capacidade específica de combinação (CEC) e efeito recíproco geral (ERG) e efeito recíproco específico (ERE) para os teores de ácido palmítico (16:0), esteárico (18:0), oléico (18:1), linoléico (18:2) e linolênico (18:3), segundo o modelo 1 e o modelo 2 de COCKERHAM & WEIR (1977). Os componentes quadráticos associados aos efeitos do modelo também são apresentados.

<b>Quadrados Médios</b>						
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>16:0</b>	<b>18:0</b>	<b>18:1</b>	<b>18:2</b>	<b>18:3</b>
<b>Tratamento</b>	29	3,7258**	2,2812**	711,3980**	461,4511**	13,3550**
<b>CGC</b>	5	11,4924**	8,2645**	1776,8499**	929,0110**	66,5948**
<b>CEC</b>	9	0,4847 <sup>ns</sup>	0,2416**	78,0592**	71,3496**	0,8787 <sup>ns</sup>
<b>Rec. Geral</b>	5	8,1584**	4,3384**	2107,7520**	1551,0757**	6,5502 <sup>ns</sup>
<b>Rec. Específico</b>	10	0,5431 <sup>ns</sup>	0,0966 <sup>ns</sup>	50,5000 <sup>ns</sup>	33,9501**	1,3663**
<b>Resíduo</b>	120	0,2594	0,0783	20,5444	13,2794	0,4676
<b>Média</b>		10,7818	2,8651	27,6123	53,3642	5,4005
<b>CV (%)</b>		4,7238	9,7695	16,4151	6,8287	12,6621
<b>Modelo 1</b>						
$\hat{S}_g^2$		0,2752**	0,2006**	42,4698**	21,4415**	1,6429**
$\hat{S}_s^2$		0,0225 <sup>ns</sup>	0,0163**	5,7515**	5,8070**	0,0411 <sup>ns</sup>
$\hat{S}_{rg}^2$		0,1269**	0,0707**	34,2875**	25,2854**	0,0864 <sup>ns</sup>
$\hat{S}_{rs}^2$		0,0284 <sup>ns</sup>	0,0018 <sup>ns</sup>	2,9956 <sup>ns</sup>	2,0671**	0,0899**
<b>Modelo 2</b>						
$\hat{S}_n^2$		0,1483 <sup>ns</sup>	0,1299**	8,1822 <sup>ns</sup>	-3,8439 <sup>ns</sup>	1,5565**
$\hat{S}_t^2$		-0,0058 <sup>ns</sup>	0,0145 <sup>ns</sup>	2,7559 <sup>ns</sup>	3,7400 <sup>ns</sup>	-0,0488 <sup>ns</sup>
$\hat{S}_m^2 + \hat{S}_p^2$		0,5077**	0,2828**	137,1501**	101,1417**	0,3456 <sup>ns</sup>
$\hat{S}_k^2$		0,0567 <sup>ns</sup>	0,0036 <sup>ns</sup>	5,9911 <sup>ns</sup>	4,1341**	0,1797**

**Quadro 21.** Comparação das médias dos cruzamentos do genitor i, usado como fêmea e como macho ( $\bar{y}_i$  vs  $\bar{y}_i$ ), para o teor de ácido oléico, pelo teste de Scheffé

Ordem	Yi.	Y.i	Contraste
1. B412113	17,77394	27,6839	-9,90996*
2. C2022	20,18674	28,17218	-7,98544 <sup>ns</sup>
3. CS303	20,11288	29,8282	-9,71532*
4. CS92 6602	26,33782	26,55708	-0,21926 <sup>ns</sup>
5. N85-2124	30,33442	29,98514	0,34928 <sup>ns</sup>
6. N85-2176	50,92818	23,44748	27,4807*

S=8,86.

\* P<0,05.

<sup>ns</sup>: Não significativo

**Quadro 22.** Comparação das médias de cruzamentos recíprocos ( $y_{ij}$  vs  $y_{ji}$ ) para o teor de ácido linolênico, pelo teste t.

Cruzamento	Média F <sub>1</sub>	Recíproco	t calculado
1 x 2	6,0433	6,3034	-0,6161 <sup>ns</sup>
1 x 3	7,3469	7,9108	-1,3358 <sup>ns</sup>
1 x 4	7,0967	7,9920	-2,1208*
1 x 5	5,3249	4,5804	1,7636 <sup>ns</sup>
1 x 6	5,7117	4,0870	3,8487*
2 x 3	6,0687	5,4103	1,5597 <sup>ns</sup>
2 x 4	5,5388	7,1949	-3,9231*
2 x 5	3,8151	3,4906	0,7687 <sup>ns</sup>
2 x 6	3,7147	2,6588	2,5013*
3 x 4	8,2134	7,9514	0,6206 <sup>ns</sup>
3 x 5	6,0015	4,3244	3,9728*
3 x 6	5,6505	3,4827	5,1352*
4 x 5	5,4020	5,5080	-0,2511 <sup>ns</sup>
4 x 6	5,1816	4,0823	2,6041*
5 x 6	3,4609	2,4674	2,3535*

\* P<0,05

<sup>ns</sup> Não significativo

Para o teor de ácido linoléico, observa-se a significância para todos os efeitos do modelo 1, inclusive os efeitos recíprocos geral e específico. Dessa forma, observa-se no modelo 2, a existência de efeitos extranucleares materno e paterno ( $\hat{S}_m^2 + \hat{S}_p^2$ ) e interação entre efeitos extranucleares e nucleares ( $\hat{S}_k^2$ ).

Para o teor de ácido linolênico, houve significância para todos os efeitos, exceto para a capacidade específica de combinação e o efeito recíproco geral. Comparando-se com as análises efetuadas pela metodologia de GRIFFING (1956), verifica-se não haver correspondência para a significância do efeito da capacidade específica de combinação, sugerindo que os efeitos recíprocos específicos são predominantes em relação aos desvios dados pela CEC. A existência de efeitos recíprocos específicos indica que a interação entre efeitos extranucleares e nucleares ( $\hat{S}_k^2$ ) para esta característica é importante em sua determinação.

Como o efeito recíproco específico foi significativo para o teor de ácido linolênico, foram analisadas as médias dos cruzamentos recíprocos ( $y_{ij}$  vs  $y_{ji}$ ) por meio do teste t. De acordo com o Quadro 22, nota-se que os cruzamentos recíprocos entre os progenitores B412113 vs CS929902 (1 x 4), B412113 vs N85-2176 (1 x 6), C2022 vs CS92 6602 (2 x 4), C2022 vs N85-2176 (2 x 6), CS303 vs N85-2124 (3 x 5), CS303 vs N85-2176 (3 x 6), CS92 6602 vs N85-2176 (4 x 6) diferiram significativamente

Segundo o modelo biológico, verifica-se, curiosamente, que a contribuição nuclear dos progenitores ( $\hat{S}_n^2$ ) foi não significativa, para todas as características, exceto para o ácido esteárico e o ácido linolênico. Este fato pode estar associado à não inclusão dos pais na análise dialélica de COCKERHAM & WEIR (1977) e à predominância dos efeitos recíprocos em relação aos efeitos da capacidade de combinação específica. A interação entre efeitos nucleares ( $\hat{S}_r^2$ ) foi, conseqüentemente, não significativa para quaisquer dos caracteres avaliados.

A presença de efeitos recíprocos gerais e efeitos específicos para os teores de ácido oléico e linoléico, respectivamente, indicam de certa forma, a predominância destes efeitos em relação ao efeito de complementação gênica, relativo à capacidade específica de combinação. Segundo ALIKA & OJOMO

(1996), que estudou a qualidade físico-química de sementes de milho por meio da análise dialélica de GRIFFING, a presença de efeitos recíprocos significativos pode indicar a participação de fatores citoplasmáticos na determinação do caráter. Como foram analisadas sementes  $F_1$  no presente estudo, recomenda-se em trabalho futuro, a utilização de bulks de sementes  $F_2$  com o intuito de se avaliar o desempenho de indivíduos  $F_1$  a fim de verificar, desta forma, a influência dos efeitos extranucleares neste tipo de amostragem.

A influência de genes nucleares e extranucleares, bem como as interações resultantes desta influência, talvez expliquem a dificuldade de se obter genótipos com teores modificados destes ácidos graxos, em especial o ácido oléico. Esta dificuldade adicional pode ter levado os diferentes programas de melhoramento a procurarem métodos de melhoramento alternativos, como a mutação induzida e o desenvolvimento de variedades transgênicas, baseados principalmente nos efeitos de genes maiores (FHER & CURTISS, 2004).

Sugere-se, com base nos resultados apresentados, a utilização de métodos de melhoramento, como o método de seleção recorrente, que permitam o enriquecimento de alelos favoráveis do pool gênico nuclear. Por outro lado, deve-se associar a este tipo de estratégia a escolha adequada de genótipos doadores de citoplasma, como uma alternativa para programas de melhoramento que visem a modificação dos teores de ácido oléico e linolênico.

## 5. CONCLUSÕES

Com base nos objetivos propostos e nos resultados obtidos, conclui-se:

1. Os genótipos BARC-12, C2022, N85-2124 e N85-2176 foram os que apresentaram melhor desempenho para ácido linolênico, com teores iguais ou inferiores a 4,0%.

2. Os genótipos BARC-12 e N85-2176 foram os que apresentaram melhor desempenho para o teor de ácido oléico, apresentando um valor percentual de 49,0% e 47,0% deste ácido graxo, respectivamente.

3. De acordo com as distâncias generalizadas de Mahalanobis, os genótipos BARC-12 e N85-2176 formaram um grupo à parte em relação aos demais, possuindo alto teor de ácido oléico e baixo teor de ácido linolênico; os genótipos B412113, CS303 e CS926602, linhagens elite do programa soja, foram localizados em um grupo distinto, apresentando teores normais de ácidos graxos; os genótipos C2022 e N85-2124 localizaram-se em um terceiro grupo distinto e apresentam baixos teores de ácido linolênico.

4. O estudo da divergência genética com base em marcadores moleculares determinou a formação de três grupos de genótipos. No primeiro grupo, incluiu-se os genótipos BARC-12, N85-2124 e N85-2176. Em um segundo grupo, localizaram-se os genótipos CS303 e CS92 6602. No terceiro

grupo verificou-se a presença dos genótipos B412113 e C2022. Os grupos formados apresentaram bom nível de coincidência com relação àqueles estabelecidos com base nas distâncias generalizadas de Mahalanobis ou com base nas distâncias euclidianas obtidas a partir dos escores das duas primeiras variáveis canônicas.

5. Embora haja coincidência na formação de grupos, a correlação entre medidas de distância com base nos teores de ácidos graxos com as medidas de dissimilaridade obtidas com base em dados moleculares não foram correlacionadas ( $r=0,38$ ).

6. O coeficiente de repetibilidade, considerando a análise de sementes individuais, indicou uma alta determinação para o número de repetições avaliados, mostrando ser possível, neste estudo, a utilização deste tipo de amostragem.

7. Os efeitos para capacidade geral de combinação (CGC), capacidade específica de combinação (CEC) e efeito recíproco (ER) foram significativos para todos os caracteres avaliados, segundo a metodologia de GRIFFING (1956).

8. A alta relação CGC:CEC indica haver predominância de ação gênica aditiva para o controle da expressão dos teores de ácidos graxos em soja.

9. Os progenitores N85-2124 e N85-2176 foram superiores em relação aos demais, com base na análise dos efeitos da CGC ( $\hat{g}_i$ ), tanto para o aumento do teor de ácido oléico quanto para a redução do teor de ácido linolênico.

10. Efeitos extranucleares materno e paterno foram significativos na expressão do teor de ácido oléico, evidenciando a influência de efeito recíproco geral para esta característica. Nos cruzamentos envolvendo os progenitores B412113, CS303 e N85-2176 este efeito foi mais pronunciado.

11. Para o teor de ácido linolênico, a presença de efeitos recíprocos específicos indica a interação de genes nucleares e extranucleares na expressão do caráter. Dentre os progenitores utilizados, os cruzamentos que

envolvem os progenitores N85-2176 ou CS92 6602 foram aqueles que apresentaram estar sob maior influência de efeitos recíprocos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLARD, R. W. **Princípios do Melhoramento Genético das Plantas**. 1ª Edição. Edgard Blücher. Rio de Janeiro. Tradução de: BLUMENSCHNEIN, A., PATERNIANI, E., GURGEL, J. T. A., VENCOSKY, R. 381p. 1971.
- ALIKA J. E. & OJOMO, J. O. Combining ability and reciprocal effects for physico-chemical grain quality characteristics in maize. **Food chemistry**. 57(3):571-575. 1996.
- BRAVO, J. J., FEHR, W. R., WELKE, G. A., HAMMOND, E. G., CIANZIO, S. R. Family and line selection for elevated palmitate in soybean. **Crop Sci**. 39:679-682. 1999.
- BRIM, C. A., SCHUTZ, W. M., COLLINS, F. I. Maternal effect on fatty acid composition oil content of soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. **Crop Sci**. 8(5):517-518. 1968.
- BUBECK, D.M., FEHR, W.R. HAMMOND, E.G. Inheritance of palmitic and stearic acid mutants of soybean. **Crop Sci**.29:652-656. 1989.
- BURTON, J. W., WILSON, R. F., BRIM, C. A. Recurrent selection in soybeans. IV. Selection for increased oleic acid percentage in seed oil. **Crop Sci**. 23:744-747. 1983.
- COCKERHAM, C. C. & WEIR, B.S. Quadratic analyses of reciprocal crosses. *Biometrics*. 33:187-203. 1977.
- CRAMER, M. M., BEVERSDORF, W. D., VOLDENG, H. D. Environmental factors affecting selection for low linolenic acid soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.). **Agron. Abstr. Am. Soc. of Agron**. Madison. Wisconsin. p82. 1982.
- CRUZ, C. D., REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2ª Edição. Viçosa: UFV. Editora UFV. 390p. 1994.

- CRUZ, C. D. **Programa GENES: aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa, MG. 442p. 1997.
- CRUZ, C. D. & VENCOVSKY, R. Comparação de alguns métodos de análise dialélica. **R. Bras. Genet.** Ribeirão Preto. 12:425-438. 1989.
- DOYLE, J. J. & DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus.** 12:13-15. 1990.
- DUNTON, H. J., LANCASTER, C. R., EVANS, C. D., COWAN, J. C. The flavor problem of soybean oil VII. Linolenic acid. **J. Am. Oil Chem. Soc.** 28:115-118. 1951.
- FALCONER, D.S. & MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. 4<sup>a</sup> Edição. Malaysia, Longman, 464p. 1996.
- FEHR, W. R. **Principles of cultivar development: theory and technology**. Macmillan Publ. New York. 1987
- FEHR, W. R., WELKE, G. A., HAMMOND, E. G., DUVICK, D. N. CIANZIO, S. R. Inheritance of reduced linolenic acid content in soybean genotypes A16 and A17. **Crop Sci.** 32:903-906. 1992.
- FEHR, W. R. & CURTISS, C. F. Breeding for fatty acid composition of soybean oil. **In: Proceedings. IV International Soybean Processing and Utilization Conference.** Foz do Iguaçu, PR. p815-821. 2004.
- GESTEIRA, A. S. **Estudo de herança e de marcadores moleculares para teor de ácido linolênico em soja**. Viçosa, MG: UFV, 1997. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa. 1997.
- GARDNER, C. O., EBERHART, S. A. Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. **Biometrics.** 22:439-452. 1966.
- GRAEF, G.L., FEHR, W.R., MILLER, L.A. et. al. Inheritance of fatty acid composition in a soybean mutant with low linolenic acid. **Crop Sci.** V.28, p55-58, 1988.

- GRIFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal Biological Science**. 9:462-463. 1956.
- HAMMOND, E. G., & FEHR, W. R. Oil quality improvement in soybean, (*Glycine max* (L.) Merr.). **Fette Seifen Anstrichm.** 77:97-101. 1983.
- HAMMOND, E. G., & FEHR, W. R. Registration of A5 germoplasm line of soybean. **Crop Sci.** 23:192-193. 1983.
- HAWKINS, S.E., FEHR, W.R., HAMMOND, E.G., CIANZIO, S.R. Use of tropical environments in breeding for oil composition of soybean genotypes adapted to temperate climates. **Crop Sci.** 23:897-899. 1983a.
- HAWKINS, S. E., FEHR, W. R., HAMMOND, E. G. Resource allocation in breeding for fatty acid composition of soybean oil. **Crop Sci.** 23 :900-904. 1983b.
- HAYMAN, B. I. The theory and analysis of diallel crosses. **Genetics.** 39:789-809. 1954.
- HILDEBRAND, D.; COLLINS, G. Manipulation of linolenate and other fatty acids in soybean oil. **Soybean Research Documents Online** (<http://www.ag.uiuc.edu/~stratsoy/research>), 1998.
- JOHNSON, H.W., BERNARD, R.L. Soybean genetics and breeding. In: NORMAN, A. G. (Ed.). **The soybean genetics, breeding, physiology, nutrition and management.** New York: Academic. p1-73. 1967.
- KINNEY, A.J. Genetic modification the storage lipids of plants. **Curr. Opin. in Biotech.** 5:144-151. 1994.
- KINNEY, J. A. Development of genetically engineered soybean oils for food applications. **Journal of Food Lipids.** 3:273-276. 1996.
- LANNA, A. C. **Efeito da temperatura sobre a regulação da síntese de ácidos graxos polinsaturados em soja.** Viçosa, MG: UFV, 2002. (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa. 2002.

- LEON, G. S., FEHR, W. R., WELKE, G. A., HAMMOND, E. G., CIANZIO, S. R. Family and line selection for reduced palmitate, estearate and linolenate of soybean. **Crop Sci.** 41:63-67. 2001.
- LIU, K. **Soybeans: chemistry, technology, and utilization.** 1ª Ed. Chapman & Hall. New York, NY. 532p. 1997.
- MARTIN, B. A., CARVER, B. F., BURTON, J. W., WILSON, R. F. Inheritance of fatty acid composition in soybean seed oil. **Soybean Genet. Newsl.** 10:89-92. 1983.
- MORAES, R. M. A. **Eficiência de seleção para teores dos ácidos oléico e linolênico em soja cultivada em duas temperaturas.** Viçosa, MG: UFV, 1999. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa. 1999.
- MORAES, R. M. A. **Introgressão de alelos para alto teor de proteína em soja assistida por marcadores moleculares.** Viçosa, MG: UFV. 139p. (Doutorado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal de Viçosa. 2003.
- MOREIRA, M. A. Programa de melhoramento genético da qualidade de óleo e proteína da soja desenvolvido na UFV. **In: Anais. Congresso Brasileiro de Soja.** Londrina, PR: Embrapa – Soja, p. 99-104. 1999.
- NARVEL, J. M., FEHR, W. R., CHU, W. C., GRANT, D., SHOEMAKER, R. C. Simple sequence repeat diversity among soybean plant introductions and elite genotypes. **Crop Science.** 40(5):1452-1458. 2000.
- NEFF, W. E., SELKE, E. MOUNTS, T. L., RINSCH, FRANKEL, E. N., ZEITOUN, M. A. M. Effect on triacylglycerol composition and structures on oxidative stability of oils from selected soybean germplasm. **J. Am. Oil Chem. Soc.** 69:111-118. 1992.
- NEFF, W. E. & LIST, G. R. Oxidative stability of natural and randomized high-palmitic and high-stearic acid oils from genetically modified soybean varieties. **J. Am. Oil Chem. Soc.** 76:825-831. 1999.

- NETO, F. A. **Caracterização de cultivares de soja por marcadores microssatélites**. Viçosa, MG: UFV. 46p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa. 2001.
- OHLROGGE, J. BROWSE, J. Lipid biosynthesis. **Plant Cell**. 7:957-970. 1995.
- PRIOLLI, R. H. G. ; MENDES-JUNIOR, C. T. ; ARANTES, N. E. ; CONTEL, E. P. B. Characterization of Brazilian soybean cultivars using microsatellite markers. **Genetics and Molecular Biology**. 25 :185-193. 2002.
- RAHMAM, S.M., TAKAGI, Y., KINOSHITA, T. Genetic control of high oleic acid content in the seed oil of two soybean mutants. **Crop Sci**. 36:1125-1128, 1996a.
- RAHMAM, S.M., & TAKAGI, Y. Inheritance of high oleic acid content in the seed oil of soybean mutant M23. **Theor. Appl. Genet**. 92:179-182 .1996b.
- RONGWEN, J., AKKAYA, M. S., BHAGWAT, A. A., LAVI, U. CREGAN, P. B. The use of microsatellite DNA markers for soybean genotype identification. **Theor. Appl. Genet**. 20:43-48.1995.
- ROSS, A. J., FEHR, G. A., WELKE, G. A., CIANZIO, S. R. Agronomic and seed traits of 1%-linolenate soybean genotypes. **Crop Sci**. 40:383-386. 2000.
- TAKAGI, Y. HOSSAIN, A. B. M. M. YANAGITA, T., MUTSUEDA, T., MURAYAMA, A. Linolenic acid content in soybean improved by X-ray irradiation. **Agric. Biol. Chem**. 54:1735-1738. 1990.
- TÖPFER, R., MARTINI, N., SCHELL, J., Modification of plant lipid synthesis. **Science**. 268:681-685. 1995.
- SCHNEBLY, S. R., FEHR, W. R. Effect of years and planting dates on fatty acid composition of soybean genotypes. **Crop Sci**. 33:716-719. 1993.
- SILVEIRA, I. L., FLÁVIO, E. F., OLIVEIRA, S. A. M. **Soja, o Alimento e a Nutrição**. Universidade Federal de Viçosa. Imprensa Universitária. Viçosa, MG. 58p. 1989.

- SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **The Indian J. of Genet. and Plant Breed.** 41:237:245. 1981.
- SOMERVILLE, C., BROWSE, J., Plant Lipids: metabolism, mutants, and membranes. **Science.** 252:80-87. 1991.
- VENCOVSKY, R. & BARRIGA, P. **Genética Biométrica no Fitomelhoramento.** Revista Brasileira de Genética. Ribeirão Preto, SP. 486p. 1992.
- WHITE, H. B., QUAKENBUSH, F. W., PROBST, A. H. Occurrence and inheritance of linolenic and linoleic acids in soybean seeds. **J. Am. Oil Chem. Soc.** 38: 113-117. 1961.
- WHITE, P. J., SU, C. P., GUPTA, M. Commercial frying stability of low linolenate, high-oleate, and typical soybean oils. In: **Abstracts. American Oil Society Annual Meeting.** Kansas City, MO. 2003.
- WILCOX, J. R., CAVINS, J. F., Nielsen, N. C. Genetic alteration of soybean oil composition by a chemical mutagen. **J. Am. Oil Chem. Soc.** 61:97-100. 1984.
- WILCOX, J. R., CAVINS, J. F., Nielsen, N. C. Inheritance of low linolenic acid content of the seed oil of a mutant in *Glycine max*. **Theor. Appl. Genet.** 71:74-78. 1985.
- WILSON, R. F., BURTON, J. W., BRIM, C. A. Progress in the selection for altered fatty acid composition in soybeans. **Crop Sci.** 21:788-791. 1981.
- YADAV, N.S. Genetic modification of soybean oil quality. In: VERMA, D.P.S, SHOEMAKER, R.C (Eds.). **Soybean genetics, molecular biology and biotechnology.** USA: CAB International. p165-188. 1996.