

CARLOS ALBERTO OSÓRIO MARTINS

**AVALIAÇÃO DE CARACTERES AGRONÔMICOS
DE LINHAGENS DE SOJA COM OU SEM
LIPOXIGENASES NAS SEMENTES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2001
CARLOS ALBERTO OSÓRIO MARTINS

**AVALIAÇÃO DE CARACTERES AGRONÔMICOS DE
LINHAGENS DE SOJA COM OU SEM
LIPOXIGENASES NAS SEMENTES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 21 de março de 2001.

Prof.^a Maria Goreti de Almeida Oliveira
(Conselheira)

Prof. Maurílio Alves Moreira
(Conselheiro)

Prof. Moacil Alves de Souza

Prof.^a Denise Cunha F. dos S. Dias

Prof. Carlos Sigueyuki Sedyama
(Orientador)

A Deus.

Aos meus pais *Luiz e Carolina*.

Às minhas irmãs *Ana Cláudia, Zelinda, Rita e Otilia*.

Aos meus irmãos *Tadeu, Eloízio e Geraldo*.

Aos meus tios *Aparecida, Luiz e Nilton*.

AGRADECIMENTO

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar o Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro.

Ao professor Carlos Sigueyuki Sedyama, pela valiosa orientação, pela amizade e pelo incentivo durante a realização deste trabalho.

Aos professores Maurílio Alves Moreira, Valterley Soares Rocha, Múcio Silva Reis e Maria Goreti de Almeida Oliveira, pelas críticas e sugestões e pela amizade.

Às professoras Denise Cunha Fernandes Silva Dias e Eveline Mantovani Alvarenga, pelo apoio e pelas críticas enriquecedoras.

Ao professor Paulo Roberto Gomes Pereira, pela participação na banca de qualificação e pelo apoio no transcorrer do Programa.

Aos funcionários do Departamento de Fitotecnia, em especial ao Paulinho, e do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO), pela colaboração durante os trabalhos.

Ao Ivan Schuster, pelo auxílio na parte estatística e na discussão dos resultados.

Aos professores das disciplinas cursadas durante a minha formação acadêmica, pelos conhecimentos transmitidos.

Ao pesquisador John Furlong, do Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite (EMBRAPA-CNPGL), pela amizade e pelo incentivo no transcorrer do Programa.

Ao meu amigo José Fernando Scaramuzza, pelo incentivo, pelo apoio, pela amizade e pela convivência.

À minha colega de trabalho Inês Chamel José, pelo apoio e incentivo; aos meus companheiros de laboratório Newton, Rita Moraes, João Batista, Marco Antônio, Valéria e Sebastião Tavares; e aos meus colegas de doutorado Raunira, Paulo Leal, Dario, Lucas, Telma e Écila, pela agradável convivência e valiosa colaboração na execução dos experimentos.

À secretária Mara Rodrigues, por todos os serviços prestados.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

CARLOS ALBERTO OSÓRIO MARTINS, filho de Luiz Nardelli Martins e Carolina Osório Martins, nasceu em Santa Rita do Jacutinga, MG, em 30 de março de 1965.

Cursou o primeiro grau em Juiz de Fora, MG, e o curso Técnico em Agropecuária em Rio Pomba, MG.

Em 1987, ingressou na Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG, onde se formou Engenheiro-Agrônomo em julho de 1993.

No período de 1988 a 1989, exerceu atividades de Iniciação Científica na área de Microbiologia do Solo e, em 1992 e 1993, na área de Melhoramento de Soja para Consumo Humano.

No período de novembro de 1989 a maio de 1992, exerceu suas atividades profissionais na EMBRAPA-CNPGL, como assistente de pesquisa.

Em março de 1994, iniciou o Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, em nível de mestrado, na UFV, concluindo-o em setembro de 1996.

Em outubro de 1996, ingressou no Programa de Pós-Graduação na UFV, em nível de doutorado, também em Fitotecnia, submetendo-se à defesa de tese em março de 2001.

ÍNDICE

RESUMO	viii
ABSTRACT	x
INTRODUÇÃO GERAL	1
REVISÃO DE LITERATURA	3
 CAPÍTULO 1	
EFEITO DA ELIMINAÇÃO GENÉTICA DAS LIPOXIGENASES DAS SEMENTES SOBRE AS CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DA SOJA	19
1. INTRODUÇÃO	19
2. MATERIAL E MÉTODOS	21
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
3.1. Variedade FT-Cristalina RCH	27
3.2. Variedade Doko-RC	39
3.3. Variedade IAC-12	46
4. CONCLUSÕES	54
 CAPÍTULO 2	
EFEITO DA ELIMINAÇÃO GENÉTICA DAS LIPOXIGENASES SOBRE A QUALIDADE FISIOLÓGICA E SANITÁRIA DAS SEMENTES DE SOJA	55
1. INTRODUÇÃO	55
2. MATERIAL E MÉTODOS	57
2.1. Teste-padrão de germinação	59

2.2. Teste de envelhecimento acelerado	59
2.3. Emergência e vigor de plântulas	60
2.4. Teste de sanidade das sementes	61
2.5. Análise estatística	62
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
3.1. Germinação e vigor das sementes	68
3.2. Teste de envelhecimento acelerado	70
3.3. Emergência e vigor das plantas	72
3.4. Sanidade das sementes	74
4. CONCLUSÕES	77
CAPÍTULO 3	
EFEITO DA ELIMINAÇÃO GENÉTICA DE LIPOXIGENASES NAS SEMENTES DE SOJA SOBRE A RESISTÊNCIA AO CANCRO-DA- HASTE, À CERCOSPORIOSE E AO OÍDIO	
	78
1. INTRODUÇÃO	78
2. MATERIAL E MÉTODOS	80
2.1. Teste do cancro-da-haste	82
2.2. Teste do oídio	83
2.3. Teste da cercosporiose	83
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	86
3.1. Cancro-da-haste	86
3.2. Oídio	88
3.3. Cercosporiose	89
4. CONCLUSÕES	91
RESUMO E CONCLUSÕES	92
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95

RESUMO

MARTINS, Carlos Alberto Osório, D.S., Universidade Federal de Viçosa, março de 2001. **Avaliação de caracteres agronômicos de linhagens de soja com ou sem lipoxigenases nas sementes.** Orientador: Carlos Sigueyuki Sedyama. Conselheiros: Maurílio Alves Moreira e Maria Goreti de Almeida Oliveira.

Este trabalho foi conduzido em laboratórios e área de campo da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, objetivando estudar o comportamento de linhagens, derivadas de três variedades de soja, sem os genes que codificam as três isoenzimas lipoxigenases das sementes, pela avaliação de suas características agronômicas, com relação à qualidade fisiológica e sanitária das sementes e à resistência ao cancro-da-haste, à cercosporiose e ao oídio. Foram estudadas as variedades FT-Cristalina, Doko-RC e IAC-12 e respectivas linhagens, com as três lipoxigenases nas sementes – triplo-positivas ($Lx_1Lx_1Lx_2Lx_2Lx_3Lx_3$) –, ou sem a presença delas – triplo-nulas ($lx_1lx_1lx_2lx_2lx_3lx_3$) –, obtidas por meio de retrocruzamentos assistidos por marcadores moleculares e testes colorimétricos e medição da atividade enzimática. Os resultados indicaram que a ausência de genes que codificam a presença das três lipoxigenases nas sementes não foi prejudicial às características

agronômicas da planta e à produção de sementes, sendo, ainda, preservada a qualidade fisiológica das sementes avaliadas pelos testes-padrão de germinação, envelhecimento acelerado, emergência e vigor das plântulas e sanidade das sementes. Do mesmo modo, não houve alteração na resistência ao cancro-da-haste, à cercosporiose e ao oídio.

ABSTRACT

MARTINS, Carlos Alberto Osório, D.S., Universidade Federal de Viçosa, March of 2001. **Estimation of agronomics traits of linkage of soybean with or without lipoxygenases in the seeds.** Adviser: Carlos Sigueyuki Sedyama. Committee members: Maurílio Alves Moreira and Maria Goreti de Almeida Oliveira.

Field performance of lines derived from three soybean varieties lacking genes coding for three lipoxygenase. Was studied under laboratory and field conditions at UFV. Seed physiological and sanitary conditions, resistance to stern canker, frog eye leaf spot and powdery mildew infection were determined in relation to agronomic traits. FT-Cristalina RCH, Doko RC and IAC-12 varieties and respective lines with seed lipoxygenases ($Lx_1 Lx_1Lx_2Lx_2Lx_3Lx_3$), without three seed lipoxygenases ($lx_1lx_1lx_2lx_2lx_3lx_3$) were obtained through the following, monitored methods: molecular markers, colorimetric tests and enzyme activity levels. The results indicated that the absence of genes coding for seeds three lipoxygenase didn't affect field performance, seed production and seed quality. Seed analyses performed were germination test, accelerated aging test, seedling emergence rate in sand bed and Blotter test. Likewise,

the absence of lipoxygenases didn't alter soybean plant resistance to stem canker, frog eye leaf spot and powdery mildew.

INTRODUÇÃO GERAL

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é a cultura de grãos mais importante do País, constituindo o complexo-soja, que compreende: “grãos, farelo e óleo”. A soja é uma das mais importantes “commodities” nacionais, responsável, nas últimas safras, pela captação de divisas no mercado internacional da ordem de US\$4 bilhões ao ano (CÂMARA, 1998).

O Brasil é o segundo maior produtor e exportador mundial de soja, tendo área plantada de aproximadamente 13,6 milhões de hectares, com uma produção de 32,68 milhões de toneladas, na safra 99/00, e rendimento médio de 2,4 t/ha (EMBRAPA, 2000).

A cultura da soja, nos últimos anos, vem crescendo em vários países, principalmente em regiões de climas tropical e subtropical, como é o caso do Brasil. Essa expansão se deve ao seu potencial como matéria-prima de diversos produtos, mas, principalmente, ao desenvolvimento de variedades melhoradas, adaptadas ao cultivo em variadas condições de plantio, adequadas à colheita mecanizada, e resistentes às doenças.

Os grãos da soja são utilizados pela indústria de alimentos devido ao seu alto valor nutricional, advindo da concentração de óleo e de proteína de baixo custo. Porém, os produtos alimentícios derivados dos grãos da soja não têm boa aceitação no mercado consumidor ocidental, em virtude do sabor e odor característicos, conhecidos como “beany flavor”. A principal causa desses sabor e odor são as lipoxigenases, isoenzimas presentes nos grãos da soja que catalisam a adição de O₂ molecular aos ácidos graxos polinsaturados, que contêm o grupo cis-cis-1,4-pentadieno, originando hidroperóxidos, os quais são degradados, formando produtos que podem interagir com proteínas e peptídeos.

Para contornar esse problema e melhorar as características organolépticas dos derivados da soja, programas de melhoramento genético da soja têm desenvolvido linhagens com a ausência das três isoenzimas de lipoxigenases nos grãos. Entretanto, é escasso o conhecimento da função fisiológica dessas isoenzimas. Há indícios de que elas possam estar envolvidas no processo germinativo da semente de soja, no crescimento e desenvolvimento de plântulas, na senescência, na resposta a injúrias nas plantas e na resistência a pragas.

Dessa forma, procurou-se, neste trabalho, avaliar os possíveis efeitos da retirada genética das três lipoxigenases dos grãos de soja, em alguns caracteres agrônômicos da planta, na qualidade fisiológica das sementes e na resistência da planta ao cancro-da-haste, à cercosporiose e ao oídio.

REVISÃO DE LITERATURA

Lipoxigenases

A enzima lipoxigenase (EC.1.13.11.12.) é uma oxirredutase que catalisa a peroxidação de moléculas contendo grupos cis, cis-1,4-pentadieno. A degradação subsequente dos hidroperóxidos formados pode levar ao aparecimento de diversos compostos relacionados com o desenvolvimento de sabores e odores indesejáveis em produtos derivados de soja, com redução do seu valor nutricional (WOLF, 1975; RACKIS et al., 1979).

A semente de soja é fonte rica em lipoxigenases (Lox) na forma de três isoenzimas, denominadas Lox 1, Lox 2 e Lox 3. Algumas características bioquímicas importantes das lipoxigenases foram citadas por LANNA (1995), destacando-se o peso molecular das isoenzimas: 94.038 (Lx 1), 97.053 (Lx 2) e 96.857 (Lx 3); os pontos isoelétricos: 5,68 (Lx 1), 6,25 (Lx 2), 6,15 (Lx 3); e os pH's ótimos de atuação: 9,5 (Lx 1), 6,5 (Lx 2) e 5,0-9,0 (Lx 3).

Os principais substratos para as lipoxigenases, em plantas superiores, são os ácidos linoléico e linolênico, sendo o primeiro o mais abundante

ácido graxo em sementes de plantas superiores. A lipoxigenase catalisa a modificação peroxidativa de ácidos graxos polinsaturados, que conduz à formação de vários produtos secundários da oxigenação de lipídios. O evento inicial da ação da lipoxigenase parece ser a liberação de ácidos graxos livres de glicerolipídios, assim como de fosfolipídios, que são, aparentemente, o substrato inicial da lipoxigenase (HILDEBRAND, 1989).

Há vários trabalhos relacionando os produtos da ação de lipoxigenase com o processo de deterioração de sementes, porém pouco se sabe sobre o seu papel fisiológico na planta. HILDEBRAND (1989) destacou as três maiores áreas da fisiologia de plantas, nas quais as lipoxigenases têm sido implicadas: 1) crescimento e desenvolvimento; 2) senescência; e 3) resposta a lesões e resistência às pragas. Relatou, ainda, que a alta atividade da lipoxigenase nas sementes em germinação pode acelerar a ruptura de membranas celulares e facilitar o transporte de produtos armazenados para o desenvolvimento do embrião. Nesse sentido, FEUSSNER et al. (1995) sugeriram que, durante o processo de germinação, conduzida na ausência de luz, a lipoxigenase inicia a mobilização de lipídios de reserva. Esses autores relataram que ácidos graxos oxigenados são, preferencialmente, liberados de corpos lipídicos e, subseqüentemente, no citoplasma, podendo servir de substrato para a β -oxidação.

Trabalhando com soja, PARK e POLACCO (1989) relataram que a atividade de lipoxigenases 1, 2 e 3 cotiledonares diminui durante dois a cinco dias após o início da germinação das sementes. Em contraste com essas isoenzimas, uma nova espécie de lipoxigenase aparece nos cotilédones e no eixo hipocótilo-radícula, atribuindo esse aparecimento à síntese “de novo”. KATO et al. (1992) observaram contínua diminuição da atividade das lipoxigenases 1, 2 e 3 e o aparecimento de uma nova lipoxigenase, após a germinação de sementes de soja.

Estudando os variedades Doko-RC e CAC-1 e suas linhagens triplo-nulas, DIAS (1999) não observou atividade da Lx 1 em cotilédones de

materiais triplo-nulos, porém notou a presença da atividade das lipoxigenases 2 e 3 nas duas variedades estudadas.

De acordo com FEUSSNER et al. (1996), nos estádios de mobilização das reservas dos cotilédones das sementes, uma forma particular de lipoxigenase aparece em torno dos corpos lipídicos, sintetizada “de novo”. Essa forma é rapidamente transferida aos pontos de crescimento e age na sua superfície sozinha ou associada a lipases. No primeiro dia de germinação, a membrana do corpo lipídico é o sítio preferencial de acúmulo de lipoxigenases; dois a quatro dias após o início da germinação, as lipoxigenases do corpo lipídico diminuem e, paralelamente, as formas de lipoxigenases citosólicas aumentam; e muitos dos corpos lipídicos já foram degradados. QUEIROZ (1993) e OLIVEIRA (1996), estudando a variedade Cristalina sem as lipoxigenases 1 (Cr1), ausência da lipoxigenase 2 (Cr2), lipoxigenase 3 (Cr3) e sem as lipoxigenases 1 e 3 (Cr1,3) e ausentes das lipoxigenases 2 e 3 (Cr2,3), verificaram que a presença ou ausência das lipoxigenases não afetou a qualidade fisiológica das sementes.

Qualidade Fisiológica e Deterioração da Semente

O desenvolvimento da semente processa-se por meio de uma série de eventos, que ocorrem no ovário e no óvulo, culminando com a formação da semente madura, capaz de produzir outra planta. Após a fecundação, o peso da matéria seca da semente de soja aumenta com lentidão até, aproximadamente, 25 a 30 dias (estádio R5), enquanto o conteúdo de umidade decresce lentamente cerca de 80 a 90% (SEDIYAMA et al., 1981a).

Na maturidade fisiológica, as sementes possuem o máximo de vigor e germinação (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000). São capazes de se desenvolver com eficiência plena, pois possuem todas as funções

fisiológicas que lhe são inerentes. Do ponto de vista fisiológico, essa seria a época ideal de colheita, pois a semente exibe máxima germinação, máximo vigor e menor grau de deterioração. Nesse ponto, a colheita mecanizada é inviável, em razão do alto teor de umidade apresentado pela semente, em torno de 40% (MARCOS FILHO, 1980).

Após atingir a sua maturidade fisiológica, a semente inicia a perda de sua qualidade, por processos de deterioração, levando à redução do vigor (SEDIYAMA et al., 1981a).

A deterioração da semente, que é um processo de perda de vigor, envolve mudanças ou alterações citológicas, fisiológicas, bioquímicas e físicas, que eventualmente causam a morte das sementes, sendo inexorável, irreversível e progressivo (BEWLEY e BLACK, 1994; CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

A deterioração, em nível celular, tem como consequência inicial a desestruturação dos sistemas de membranas, com o resultante aumento da permeabilidade (CARVALHO, 1994). É interpretada como resultado de processos deteriorativos na membrana, como envelhecimento da semente, queda do vigor, declínio na atividade respiratória e aumento de vazamento de substâncias (PARRISH e LEOPOLD, 1978).

As sementes oleaginosas contêm grande quantidade de ácidos graxos polinsaturados, sendo, provavelmente, mais suscetíveis ao envelhecimento do que aquelas ricas em carboidratos e proteínas. Em condições de estresse hídrico, os lipídios estão sujeitos a ataque direto pelo oxigênio atmosférico. Em alto nível de umidade, a atividade de lipoxigenase favorece um mecanismo alternativo no ataque de lipídios pelo oxigênio (VICK e ZIMMMERMAN, 1976).

HARMAN e MATTICK (1976) concluíram que a oxidação de ácidos graxos e a formação de radicais livres ocorrem com a deterioração da semente, resultando em decréscimo dos ácidos graxos insaturados, ao passo que a quantidade de ácidos graxos saturados permanece constante.

BAILY et al. (1997) propuseram um método para detectar o nível de radicais livres presentes nas sementes. O nível desses radicais é controlado pela enzima superóxido dismutase, que tem a função de catalisar as reações de destruição de radicais livres. Por essa razão, fazendo a determinação da atividade dessa enzima, consegue-se estimar a formação dos radicais ou outros compostos gerados, como hexanal e aldeídos.

Outras metodologias para avaliação da deterioração das sementes foram sugeridas por ESASHI et al. (1997) para medir a produção de acetaldeído, em decorrência da desnaturação das proteínas funcionais em sementes de alface. KATARI e TAYLOR (1997), trabalhando com sementes de soja, utilizaram o método do envelhecimento acelerado, para avaliar bioquimicamente a produção de etanol.

O modelo de peroxidação de lipídios apresentado por WILSON JR. e McDONALD JR. (1986) tem como principal variável o tempo. Durante o armazenamento das sementes ricas em lipídios como a soja, quando ocorre um contato lento e por longo tempo com oxigênio, começa a formação de hidroperóxidos, outros ácidos graxos oxigenados e radicais livres. Estes são instáveis e reagem com as moléculas mais próximas, alterando-as. Os ácidos graxos oxigenados, na ausência de atividade enzimática na semente seca, acumulam-se. No processo de germinação, na embebição inicial da semente a membrana hidrata-se e organiza-se; com isso, a reação com o oxigênio diminui. Em seguida, ocorre a degradação enzimática dos ácidos graxos oxigenados, resultando em danos adicionais às sementes, por causa da formação de radicais livres e dos produtos secundários tóxicos, que inibem a respiração, a síntese de proteína e a síntese de DNA. A primeira consequência da peroxidação de lipídios em tecidos é a diminuição da taxa respiratória e, também, o declínio na integridade da membrana. A peroxidação dos lipídios é acelerada pela ação das enzimas lipoxigenases, as quais são encontradas em sementes, especialmente na soja (CARVALHO, 1994).

Segundo KHAN et al. (1996), a peroxidação de lipídios e a acumulação de radicais livres estão significativamente correlacionadas com o declínio da capacidade germinativa e do desenvolvimento do hipocótilo, no processo de envelhecimento rápido de sementes de soja. Esses autores relataram que, em soja, o tegumento externo da semente, a testa, é um local importante de eventos degenerativos de radicais livres induzidos por alta temperatura combinada com baixa umidade.

A peroxidação de lipídios inicia-se com a degradação de lipídios insaturados que seguem dois caminhos: 1) degradação de hidroperóxidos, formando um dialdeído e provocando a liberação das proteínas presentes nas membranas das sementes; e 2) oxidação de lipídios, que libera cargas negativas e atua, também, nas enzimas citossólicas, impedindo a glicólise e inibindo a respiração.

Melhoramento da Soja

A fração protéica da semente de soja constitui cerca de 40% do grão e a fração óleo, cerca de 20%. Os derivados da soja apresentam restrição quanto ao seu consumo pelos povos ocidentais, em razão da baixa qualidade do grão no processamento industrial. Os aspectos ligados à qualidade do grão de soja, para a indústria alimentícia, são a evolução de “beany flavor” ou “gosto de feijão cru”, a qualidade da proteína e a cor do tegumento e do hilo. O “beany flavor” está ligado ao sabor desagradável dos produtos de soja; a qualidade protéica refere-se ao teor de aminoácidos sulfurados e também às propriedades funcionais da proteína, que afetam a sua utilização como alimento; a coloração característica do tegumento e do hilo, apesar de não interferirem na qualidade nutricional, são importantes, visto que cores escuras transferem-se aos derivados industriais, diminuindo a sua aceitação para o consumo alimentar (MOREIRA et al., 1990).

O sabor e o odor desagradáveis, características dos produtos de soja, são resultantes, em grande parte, da associação de compostos de cadeia curta às proteínas, provenientes da ação catalítica das isoenzimas lipoxigenases (Lox 1, 2 e 3) sobre ácidos graxos polinsaturados, como ácidos linoléico e linolênico, encontrados nos grãos de soja (AXELROD, 1974). Os compostos carbonílicos de cadeia curta são os aldeídos hexanal geradores do sabor desagradável proveniente da ação dessas enzimas (OLIVER et al., 1982).

Os alelos que determinam a ausência de Lox 1, 2 e 3 são recessivos (HILDEBRAND e HYMOWITZ, 1982; KITAMURA et al., 1983). Os genótipos duplos homozigotos recessivos $lx_1lx_1lx_2lx_2$ e $lx_2lx_2lx_3lx_3$ foram obtidos através de cruzamentos artificiais e de genótipos com ausência dessas enzimas (KITAMURA et al., 1985; MOREIRA et al., 1993). Os genes que codificam Lox 1 e 2, por estarem estreitamente ligados, dificultam a obtenção de genótipos com a ausência dessas duas lipoxigenases. Entretanto, com o emprego de radiação gama, para indução de mutação, foram obtidas linhagens com a ausência das três lipoxigenases (Lox 1, 2 e 3), sendo denominadas linhagens triplo-nulas ou genótipos triplo-nulos. As plantas triplo-nulas, provenientes das sementes irradiadas, tiveram crescimento normal, não tendo sido observados efeitos deletéricos na viabilidade, no crescimento e no desenvolvimento da planta, em decorrência da retirada dessas lipoxigenases das sementes de soja (HAJIKA et al., 1991).

A introdução dos alelos que determinam a ausência das enzimas lipoxigenases é o modo mais adequado de eliminar este sabor indesejável. Algumas instituições nacionais, como Universidade Federal de Viçosa, EMBRAPA/Soja e Instituto Agronômico de Campinas, estão trabalhando com esse intuito, por meio de cruzamentos e retrocruzamentos. A Universidade Federal de Viçosa já obteve várias linhagens com a ausência das três lipoxigenases ou triplo-nulas. Essas linhagens, nos ensaios de avaliação de comportamento agrônomo e resistência a algumas doenças,

destacaram-se pelas boas produtividades no campo, abrindo a possibilidade de serem lançadas como variedades (SEDIYAMA et al., 1999).

Caracteres Agronômicos

As características agronômicas em soja são aquelas usadas para descrever uma planta de soja, bem como o seu desenvolvimento. Dentre outras, podem-se citar produção de grãos, dias para o florescimento, altura de plantas e conteúdo de proteínas e óleo. Essas características têm sua expressão modificada pelas condições ambientais, que variam entre estações, locais e anos. Qualquer variação no ambiente pode resultar em um estresse na planta; temperaturas extremamente altas, inadequada disponibilidade de nutrientes, danos causados por doenças ou pragas são tipos de estresse, ou seja, o ambiente determina a adaptabilidade das variedades de soja (WHIGHAM e MINOR, 1978).

O caractere agronômico produção total de sementes em uma planta depende de um conjunto de várias outras características, dentre as quais se podem destacar o tamanho e peso da semente e o número de sementes por planta, os quais, por sua vez, dependem do maior vigor da planta e de um período de frutificação mais longo (SEDIYAMA et al., 1981b).

A caracterização de variedades, além de auxiliar na sua identificação, é também de grande valia para todos aqueles que se envolvem no desenvolvimento dessa cultura. Para o melhorista de soja, o crescimento da genealogia e das demais características dos cultivares é de grande importância no planejamento dos cruzamentos a serem realizados. Os técnicos de campo, ao fazerem as vistorias nos períodos de floração e maturação, assim como os laboratoristas, após a colheita, utilizam diversas características para avaliar o nível de mistura com outros

cultivares e tomam as devidas providências para manter a pureza genética do cultivar (SEDIYAMA et al., 1981b).

De acordo com FEHR (1978), as características agronômicas altura de plantas, produção de sementes, resistência ao acamamento, percentagem de óleo e de proteína e tamanho das sementes são caracteres quantitativos.

As características de produção de sementes, número de vagens por planta e número de sementes por vagens apresentam baixa herdabilidade, indicando que a seleção para produção de sementes em gerações precoces pode ser difícil. E as estimativas foram, geralmente, maiores para acamamento, altura de planta, florescimento, frutificação e maturação quando ANAND e TORRIE (1963) estudaram três cruzamentos de soja, avaliando nove características agronômicas em cada um dos cruzamentos avaliados.

JOHNSON e BERNARD (1963) afirmaram que, na cultura da soja, muitos caracteres são menos influenciadas pelo ambiente que a produção e, quando estes estão consistentemente a ela associados, podem ser usados de maneira eficiente nos programas de melhoramento de soja, cujo objetivo principal, dentre outros, seja o aumento da produtividade.

KNOW e TORRIE (1964) verificaram, em soja, que as características produção de sementes, suscetibilidade ao acamamento, época de maturação e altura de planta estavam associadas. Eles, selecionando plantas F_2 do cruzamento de variedades Norchief e Clark, nas gerações F_3 e F_4 , constataram significativa associação negativa entre o peso das sementes com as características agronômicas altura de plantas, acamamento, florescimento, frutificação, maturação e percentagem de óleo e proteína.

A quantidade de grãos de uma planta de soja é uma característica significativamente influenciada pelo ambiente e tem baixa herdabilidade, em torno de 40%. MORO (1990) verificou que essa característica é dependente de fatores ambientais quando a analisou na geração F_2 , recomendando que não seja usada no melhoramento de soja. Porém, ele

obteve altas estimativas de herdabilidades para as características dias para florescimento, dias para frutificação e altura de planta.

As características agronômicas, como número de dias para maturação, altura da planta, inserção da primeira vagem e peso médio de 100 sementes, são influenciadas pelo ambiente e modificam-se de uma região para outra (ARANTES e NOGUEIRA, 1989).

BERNARD (1971) relatou que as características número de dias para floração e número de dias para maturação são influenciadas por dois genes maiores, indicando a seleção viável para essas características em gerações precoces.

A característica agronômica época de florescimento e de maturação é governada por cinco pares de genes. Estes influenciam o tempo de florescimento e maturação, bem como o fotoperíodo, que pode ser prolongado ou encurtado de acordo com a resposta aos dias curtos, dependendo do cultivar em estudo (DESTRO et al., 1990).

No estudo de correlações, verificou-se que plantas mais altas apresentaram-se mais tardias, com período de juvenilidade mais longo e com maior número de nós. As causas genéticas dessas correlações dificultaram a seleção de plantas precoces com período de juvenilidade longo, maior altura e maior número de nós (SAKIYAMA, 1989).

Doenças da Soja

Cerca de 50 doenças já foram identificadas no País causando problemas na cultura da soja. Na safra de 1999/2000, as doenças foram responsáveis por perdas estimadas em US\$1,39 bilhão. Com a monocultura da soja e o cultivo desta cultura em outras regiões, as doenças são difundidas por todo o Brasil, trazendo, também, a possibilidade de surgimento de novas doenças. Assim, doenças tradicionais de menor importância numa região podem atingir proporções epidêmicas, por causa das condições ambientais favoráveis ao seu

desenvolvimento. A importância de cada doença depende do ano, da região e da condição climática em cada safra. Como exemplo, o oídio, que raramente causa danos econômicos, na safra de 1996/1997 provocou sérios danos econômicos, em várias lavouras, em todo o País (YORINORI, 2000).

Cancro-da-Haste

O fungo causador do cancro-da-haste de soja é transmitido pela semente. Dessa forma, entra na lavoura e multiplica-se em plantas mortas e nos restos de culturas, durante a entressafra, podendo disseminar-se por toda a área e lavouras vizinhas, veiculado por sementes infectadas, máquinas, veículos, implementos agrícolas, chuva e vento (PERREIRA et al., 1985).

A fase perfeita do fungo *Diaphorte phaseolorum* f. sp. *meridionalis* acontece na fase final do ciclo da cultura e no começo da próxima safra. Os ascosporos, produzidos nos peritécios nesta fase, é que irão infectar as plantas na nova safra. As unidades infectadas são responsáveis pela formação dos cancos, que podem provocar a morte da planta. A fase imperfeita (*Phomopsis phaseolorum* f. sp. *meridionalis*) ocorre nos tecidos infectados da planta e se dissemina, durante o cultivo, por meio dos conídios produzidos nos picnídios (GOMES et al., 1994).

O cancro-da-haste representa uma séria ameaça à cultura da soja, tornando-se necessária a adoção conjunta de uma série de medidas que visam ao seu controle, como o uso de sementes livres do patógeno na implantação das lavouras, o tratamento das sementes com fungicidas, o uso de variedades resistentes, a rotação de culturas e de variedades, a aração profunda, a semeadura em épocas com menor frequência de chuvas e a adubação equilibrada, dando ênfase ao potássio (YORINORI, 1990). Entretanto, o método de controle mais eficiente e econômico do cancro-

da-haste é o uso de variedades resistentes (SINCLAIR, 1982). Nesse sentido, o uso do método de introdução de palitos de dente, colonizados com o micélio do fungo, nas plantas tem-se mostrado eficiente na identificação de variedades e linhagens resistentes à doença, em casa de vegetação (KEELING, 1982).

Todavia, devido à ocorrência relativamente recente da doença, à rapidez com que se espalhou pelo Brasil e ao tempo necessário para o desenvolvimento de variedades resistentes, não tem sido possível, ainda, disponibilizar variedades resistentes a todos os produtores de soja, em razão da pouca disponibilidade de sementes na maioria dos Estados produtores (YORINORI, 1996).

A herança da resistência ao cancro-da-haste foi estudada pela primeira vez, na variedade Tracy-M, por KILEN et al. (1985), avaliando as progênies F_2 e F_3 , provenientes do cruzamento entre essa variedade e “J77-339”, uma linhagem suscetível. Esse estudo indicou que a resistência na variedade Tracy-M é controlada por dois genes dominantes. BOWERS JUNIOR et al. (1993) relataram que a resistência a essa doença é governada por genes dominantes de efeitos maiores, sendo denominados Rdc3 e Rdc4, diferindo dos dois genes Rdc1 e Rdc2 da variedade Tracy-M. Por sua vez, SIVIERO (1992), estudando variedades nacionais na geração F_7 , encontrou os mesmos resultados anteriores e propôs as denominações Rdm1 e Rdm2 para os dois genes encontrados, respectivamente.

CARVALHO (1995), avaliando a resistência ao cancro-da-haste em linhagens nacionais, confirmou a presença de apenas um gene dominante na variedade J118. Estudos feitos por TYLER (1996) corroboraram a presença de apenas um gene dominante na variedade de soja Hutcheson cruzada com a linhagem suscetível J77-339.

Oídio

O oídio foi constatado na cultura da soja em 1947, dentro da casa de vegetação, na Carolina do Norte, EUA, tornando-se um grande problema para aquela região (ATHOW, 1987). A doença é causada pelo fungo *Microsphaera diffusa* (Cke. & Pk.) (Sin. *Erysiphae polygoni* DC), parasita obrigatório que infecta várias leguminosas.

Na safra 1996/97, o oídio surpreendeu a todos os envolvidos com o cultivo da soja, no Brasil, por sua ocorrência repentina, por sua ampla abrangência geográfica e altos níveis de perdas que atingiu, chegando a mais de 40% de redução na produtividade em várias lavouras. A doença atingiu severamente as lavouras, desde a região central do Brasil ao Rio Grande do Sul, onde foram utilizadas variedades suscetíveis (YORINORI, 1998).

As condições de baixa umidade relativa do ar e temperaturas amenas, que ocorrem na entressafra, são altamente favoráveis ao desenvolvimento da doença. A infecção pode ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento da planta de soja, porém é mais perceptível no início da floração. Quanto mais cedo se iniciar a infecção pelo patógeno, maior será a perda econômica (EMBRAPA SOJA, 1999).

O método mais eficiente no controle do oídio é através de variedades resistentes. Outra forma de controle é não semear variedades suscetíveis nas épocas mais favoráveis ao desenvolvimento da doença, tais como semeaduras tardias ou safrinha, e variedade para irrigação no inverno (EMBRAPA, 1999).

A resistência ao oídio foi detectada em algumas variedades cultivadas no sul (DEMSKI e PHILLIPS, 1974) e no norte dos EUA (GRAU e LAURENCE, 1975). A herança da doença é condicionada por um par de alelos dominantes. BUZZELL e HAAS (1978) designaram os alelos de Rmd e rmd para resistente e suscetível, respectivamente.

Relataram, ainda, que um segundo gene pode estar envolvido na resistência a *Microsphaera diffusa*.

Trabalhos recentes têm confirmado a herança monogênica na proporção de 3:1 e abordado a hipótese de um segundo gene estar envolvido (LOHNES e BERNARD, 1992; LOHNES e NICKELL, 1994).

Cercosporiose

A cercosporiose em soja foi identificada pela primeira vez no Brasil, em 1971, quando chegou a causar grandes prejuízos na Região Sul e na região central.

Na região central do Brasil, nas áreas de cerrados, a devastação causada por *Cercospora Sojina* nas variedades EMGOPA-301 e Doko, nos anos agrícolas 1987/88 e 1988/89, respectivamente, provocou a substituição dessas variedades pela “FT-Cristalina”, que, por vários anos, ocupou mais de 60% das áreas de soja nessa região (EMBRAPA, 1999).

A cercosporiose, ou mancha olho-de-rã, é uma doença típica das folhas que pode, no entanto, ocorrer em hastes, vagens e sementes, devendo-se ressaltar que os sintomas diferem segundo os órgãos infectados (SHERWIN e KREITLOW, 1952). Os sintomas normalmente aparecem após o início da floração e frutificação (LUCENA et al., 1983). Em estádios iniciais, os sintomas foliares variam conforme a variedade, com a idade das folhas e as condições climáticas, principalmente temperatura e umidade (REIS, 1974).

Em razão da capacidade de o fungo desenvolver raças mais virulentas, já foram identificadas 26 raças do patógeno no Brasil. É importante que, além do uso de variedades resistentes, haja a diversificação regional de variedades, com fontes de resistência diferentes quanto às raças do patógeno (YORINORI e KLINGELFUSS, 1999). Aliado ao uso de variedades resistentes, o tratamento de sementes com fungicidas de forma sistemática

é fundamental para o controle dessa enfermidade, evitando-se a introdução do patógeno ou de uma nova raça na área (EMBRAPA, 1999).

O patógeno, além de ser transmitido pela semente (YORINORI, 1999), sobrevive no campo, de um ano para outro, nos restos da cultura (SINCLAIR, 1982).

Os primeiros estudos da herança à mancha olho-de-rã foram realizados por ATHOW e PROBST (1952), com a raça 1 do patógeno em variedades resistentes e suscetíveis. Observaram que a resistência era controlada por um par de alelos dominante, denominado cada um Cs e cs. PROBST e ATHOW (1958), avaliando outras variedades, encontraram os mesmos resultados.

PROBST et al. (1965), estudando progênies F₂ e F₃ da variedade Kent (resistente Cs) e as linhagens C-1043 e C-1217 (suscetíveis), observaram os mesmos resultados anteriores e definiram que os símbolos para resistência e suscetibilidade seriam Rcs₂ e rcs₂, em que os números seriam indicativos da raça do patógeno.

Trabalho com resistência no Brasil desenvolvido por LUCENA et al. (1982), com variedades nacionais, evidenciou que a resistência é governada por um alelo dominante, porém específica para a raça 4 de *Cercospora sojina*.

PHILLIPS e BOERMA (1982), avaliando progênies F₁, F₂ e F₃ de duas variedades resistentes e duas suscetíveis, verificaram que a resistência era ligada à raça 5 do patógeno e cada variedade tinha o seu alelo dominante de resistência específico.

CORDEIRO (1986), avaliando o comportamento das gerações F₁ e F₂ de diversas variedades resistentes e suscetíveis nacionais, observou que há três genes dominantes: um gene principal, que confere resistência independente aos demais, e dois genes complementares, que condicionam resistência quando ambos são dominantes ou suscetibilidade quando presentes em outra combinação.

Estudos de BRAGA (1987) indicaram as importâncias relativas das ações gênicas aditiva, dominante e epistática dos genes de dois locos envolvidos na resistência da soja à cercosporiose. Essa autora denominou A e B os genes da resistência, concluindo que, na população estudada, o gene B apresentou maior efeito de substituição gênica, porém o genótipo Aabb foi mais resistente que o aaBB, em razão da presença da epistasia.

CAPÍTULO 1

EFEITO DA ELIMINAÇÃO GENÉTICA DAS LIPOXIGENASES DAS SEMENTES SOBRE AS CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DA SOJA

1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é a cultura de grãos mais importante do País. O complexo-soja, que compreende grãos, farelo e óleo, tem sido responsável, nas últimas safras, pela captação de divisas no mercado internacional da ordem de US\$4 bilhões ao ano (CÂMARA, 1998).

Os grãos da soja são utilizados em vários setores, merecendo destaque o setor alimentício, uma vez que possuem alto valor nutricional, pois são ricos em óleo e proteína de baixo custo. Porém, os produtos protéicos derivados dos grãos da soja não têm boa aceitação no mercado consumidor ocidental, em virtude do sabor e odor característicos, conhecidos como “beany flavor”.

Esse sabor característico é, em grande parte, proporcionado pelas enzimas lipoxigenases (Lox 1, 2 e 3). A ação catalítica exercida por essas isoenzimas sobre ácidos graxos polinsaturados, ácido linolênico e linoléico dos grãos de soja é um dos principais fatores responsáveis pelo

aparecimento dos compostos carbonílicos. Dentre essas substâncias, o hexanal é apontado como um dos principais causadores dos sabores indesejáveis (LANZA, 1995).

Por esse motivo e para melhorar as características organolépticas dos derivados da soja, por meio de melhoramento genético, pesquisadores estão removendo essas enzimas das sementes de soja por meio de retrocruzamentos; eles estão conseguindo desenvolver linhagens com ausências das três lipoxigenases, com substancial melhoria de sua aceitação pelo consumidor.

No Programa de Melhoramento da Qualidade e do Sabor da Semente de Soja da Universidade Federal de Viçosa, as linhagens sem lipoxigenases são identificadas e confirmadas pelo emprego de marcadores de DNA e pela verificação da presença das lipoxigenases nas sementes. Paralelamente, o referido programa visa, também, selecionar sementes com elevada qualidade fisiológica, para que seja obtida boa produtividade no campo com as novas linhagens. Alguns estudos têm evidenciado que existem outras lipoxigenases em outras partes da planta de soja e que as lipoxigenases devem atuar na germinação das sementes dessa leguminosa (BEWLEY e BLACK, 1994).

O objetivo deste trabalho foi, portanto, comparar características agronômicas de linhagens com e sem lipoxigenases nas sementes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no “Campus” da Universidade Federal de Viçosa (UFV), situado em Viçosa, Minas Gerais, no período de março de 1998 a junho de 1999, com a semeadura realizada na Estação Experimental “Diogo Alves de Melo”. As análises das sementes foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) e no Laboratório de Sementes do Departamento de Fitotecnia. As variedades de soja estudadas foram FT-Cristalina RCH, Doko-RC e IAC-12, com as respectivas linhagens triplo-nulas, portadoras dos três pares de genes homozigotos recessivos, designados FT-Cristalina RCH TN, Doko-RC TN e IAC-12 TN; e as linhagens triplo-positivas, portadoras dos genes homozigotos dominantes, designados FT-Cristalina RCH TP, Doko-RC TP e IAC-12 TP.

Inicialmente, o programa de melhoramento da Universidade Federal de Viçosa obteve a linhagem CR 2,3, caracterizada pela ausência de Lox 2 e 3. Essa linhagem é proveniente dos cruzamentos de FT-Cristalina Comercial com Ichigowase (variedade sem Lox3) e de outro cruzamento da FT-Cristalina com PI 86023 (Lox2 ausente). Posteriormente, fez-se a seleção desses dois cruzamentos para obtenção da linhagem FT-Cristalina

ausente nas lipoxigenases Lox2 e 3, denominada FT-Cristalina 2 e 3 (Cr 2,3), pelo método colorimétrico (SUDA et al., 1995). Essa seleção foi feita desde a geração F₂ até a F₆ de autofecundação.

Com as sementes dessas linhagens, foram realizados cruzamentos com uma linhagem sem as três isoenzimas lipoxigenases (triplo-nulas), conduzidos no “National Agriculture Research Center”, Tsukuba, Japão, pelo Dr. Keisuke Kitamura, que enviou as sementes F₁ ao BIOAGRO. As sementes F₁ foram plantadas em casa de vegetação. As sementes F₂ foram selecionadas para ausência das três lipoxigenases, através dos métodos colorimétricos (SUDA et al., 1995) e da determinação da atividade das lipoxigenases (OLIVEIRA et al., 1998). Essas sementes foram cruzadas com a linhagem Cr 2,3, obtendo-se o primeiro retrocruzamento. Posteriormente, foram realizados retrocruzamentos desse material com as variedades FT-Cristalina, Doko-RC e IAC-12. No quarto retrocruzamento dessas sementes com essas variedades, foram selecionadas as sementes triplo-nulas (portadoras dos três pares de genes recessivos) e as sementes triplo-positivas (portadoras dos genes dominantes) utilizadas neste trabalho. Porém, a partir do segundo retrocruzamento, começou-se a utilizar a FT Cristalina RCH.

A seleção das sementes triplo-nulas e triplo-positivas foi realizada por meio de testes colorimétricos (SUDA et al., 1995) e de determinação da atividade das lipoxigenases (OLIVEIRA et al., 1998), para confirmação dos genótipos. Os tratamentos foram, portanto, designados FT-Cristalina RCH Comercial, FT-Cristalina RCH Triplo-Nula ($lx_1lx_1lx_2lx_2lx_3lx_3$) e FT-Cristalina RCH Triplo-Positiva ($Lx_1Lx_1Lx_2Lx_2Lx_3Lx_3$), com denominação análoga de Doko-RC e IAC-12.

As sementes selecionadas foram semeadas, em casa de vegetação, nos meses de maio a junho de 1998, com a finalidade de multiplicação das sementes para serem cultivadas no campo. A colheita das sementes foi realizada manualmente, nos meses de setembro e outubro desse mesmo

ano, as quais foram separadas por variedade e respectivas linhagens, com ou sem lipoxigenases, para posterior semeadura no campo.

No Quadro 1 estão descritas algumas características das três variedades estudadas.

A semeadura no campo foi realizada em três épocas (27 de outubro, 18 de novembro e 14 de dezembro de 1998), em terreno preparado com arações e gradagens, tendo sido aplicado o herbicida Boral, em pré-semeadura, na dosagem de 1 L/ha. Foram utilizados 400 kg/ha de adubo 4-14-8, no sulco de semeadura. Em cada época, foram plantadas 10 linhas de FT-Cristalina RCH Comercial, 10 linhas de FT-Cristalina RCHTP e 10 linhas de FT-Cristalina RCH TN. Para Doko-RC e IAC-12, foram plantadas oito e quatro linhas de cada material, respectivamente.

As parcelas foram de 2,5 m de comprimento, espaçadas 0,70 m uma da outra, sendo aproveitadas as 10 plantas centrais da fileira e descartando-se as plantas das bordaduras. Elas receberam três capinas manuais, irrigação quando necessário e controle de percevejo, por meio de duas aplicações, na dosagem de 30 mL de endossulfam e 6 mL de espalhante adesivo, em 20 L de água do volume do pulverizador costal.

As plantas foram colhidas manualmente, no período de abril a julho de 1999, quando as parcelas atingiam o estágio de maturação R_8 (FEHR et al., 1978). Essas plantas foram secadas, em condições naturais, até as sementes apresentarem graus de umidade de 10 a 11% (base úmida), sendo as vagens contadas e debulhadas manualmente e armazenadas em câmara fria à temperatura de 4°C e umidade relativa de 50%, para aguardar as análises das sementes, de julho a setembro do mesmo ano, para os testes de qualidade fisiológica das sementes e resistência das plântulas às três principais doenças da soja.

Quadro 1 - Algumas características das variedades FT-Cristalina RCH, Doko-RC e IAC-12

Característica	Variedade		
	FT-Cristalina RCH	Doko-RC	IAC-12
Genealogia	Seleção em UFV-1	Doko (6) Paranaíba	Paraná X IAC 73 231
Entidade criadora	FT-Cristalina	CNPSO/CPAC	IAC- Campinas
Ano de lançamento	1975	1992	1984
Cor do hipocótilo	Roxa	Verde	Verde
Cor da flor	Roxa	Branca	Branca
Cor da pubescência	Cinza	Marrom	Marrom
Cor da vagem	Cinza	Marrom	Marrom-clara
Cor do tegumento	Amarelo-brilhante	Amarelo-claro-fosca	Amarela
Cor do hilo	Marrom-claro	Preta	Marrom
Dias para floração			
Dias para maturação	134	141	125
Altura da planta	74 cm	95 cm	70 cm
Acamamento	Resistente	Resistente	Resistente
Deiscência de vagens	Resistente	Resistente	Resistente
Peso de 100 grãos		13,2 g	12,5 g
Qualidade da semente	Boa		Boa
Cancro-da-haste (campo)	Medianamente suscetível	Resistente	Moderadamente resistente
Cancro-da-haste (casa de vegetação.)	Medianamente suscetível	Resistente	Moderadamente resistente

Cercosporiose	Resistente	Resistente	Moderadamente resistente
Pústula-bacteriana	Resistente	Resistente	Resistente

Durante o cultivo, as seguintes características agronômicas foram avaliadas:

- Número de dias para o florescimento (NDF) - Contado a partir da semeadura até a abertura da primeira flor.
- Altura da planta no florescimento (APF) - Medida do nível do solo até a extremidade da haste principal, por ocasião da abertura da primeira flor.
- Número de nós no florescimento (NNF) - Contado na haste principal, após o nó cotiledonar, por ocasião da abertura da primeira flor.
- Número de dias para maturação (NDM) - Contado a partir da semeadura até que 95% das vagens atingissem a coloração típica de maduras, correspondente ao estágio R₈ da escala de FEHR et al. (1977).
- Altura da planta na maturação (APM) - Medida do nível do solo até a extremidade da haste principal, por ocasião da maturação.
- Número de nós na maturação (NNM) - Contado na haste principal, a partir do nó cotiledonar, na época da maturação.
- Número de vagens por planta (NVP) - Número total de vagens com sementes formadas.
- Número de sementes por planta (NSP) - Número total de sementes por planta.
- Produção de sementes (PRO) - Peso total de sementes de cada planta, em gramas.

Peso de 100 sementes (PCS) - Obtido pela relação peso total de sementes e número total de sementes por planta, multiplicado por 100.

O experimento foi instalado, adotando-se o delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos, e avaliando-se, ainda, a variação entre linhas, dentro de cada tipo de material genético; o número de repetições foi de 10 plantas por fileira. As médias entre as linhas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O modelo estatístico, para cada época de semeadura da variedade, foi o seguinte:

$$Y_{ijk} = \mu + t_i + l/t_{j(i)} + \epsilon_{ijk}$$

em que

Y_{ijk} é o valor observado na k-ésima planta, na j-ésima repetição, do i-ésimo tratamento;

μ é a média geral;

t_i é o efeito do i-ésimo tratamento: $t_i \sim \text{NID}(0, \sigma_g^2)$, com $i = 1, \dots, n$, com $n = 3$;

$l/t_{j(i)}$ é o efeito da j-ésima linha dentro do i-ésimo tratamento: $l/t_{j(i)} \sim \text{NID}(0, \sigma_w^2)$; e

ϵ_{ijk} é o efeito da k-ésima planta, na j-ésima linha, do i-ésimo tratamento: $\epsilon_{ijk} \sim \text{NID}(0, \sigma_e^2)$, com $k = 1, 2, 3, \dots, p$, sendo $p = 10, 8$ ou 4 , para Cristalina, Doko-RC e IAC-12, respectivamente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Variedade FT-Cristalina RCH

Pelo resumo das análises de variância, verificou-se que a interação entre as épocas de plantio e o material genético foram significativos na variedade FT-Cristalina RCH, ou simplesmente Cristalina, cujas linhagens com e sem lipoxigenases estão representadas nos Quadros 2 a 5.

A variedade Cristalina (Quadros 2 a 5) apresentou efeito significativo em todas as características agronômicas, exceto nas duas características NNM (número de nós na maturação) e PCS (peso de 100 sementes), indicando o efeito da interação das linhas dentro de cada material genético e nas diferentes épocas de semeadura. Isso indica que, em cada época, cada linha tem variação de respostas quanto às características agronômicas avaliadas. Em cada linha dentro de material houve efeito significativo de acordo com cada material genético estudado. E nos Quadros 6, 7 e 8 observou-se que o material genético triplo-positivo apresentou mais efeito significativo que os demais materiais, mas o material triplo-nulo apresentou mais efeito significativo na característica agronômica ligada à produção de plantas, obtendo-se resultados

superiores aos das linhagens triplo-positivas e comercial. Isso indica que o melhoramento teve sucesso em retirar os genes que codificam para atuação das lipoxigenases, obtendo produtividades superiores às da variedade comercial.

Como a interação foi significativa, analisou-se cada fator em separado, ou seja, foi fixado primeiro o fator material genético, que está representado nos Quadros 2, 3, 4 e 5. Depois, a época de semeadura foi fixada, cujos dados se encontram nos Quadros 9, 10 e 11. Observa-se, nesses quadros, que nas três épocas de plantio, na maioria dos casos, a análise de variância indicou significância do tipo de material genético comercial, com ou sem lipoxigenases, sobre as características ligadas ao ciclo e crescimento das plantas e sobre a característica peso de 100 sementes (PCS).

Observando os quadros das médias das linhas (Quadros 6, 7 e 8), verifica-se que, nas diferentes épocas de plantio, houve variação do material genético que apresentou os maiores valores de médias. Quando analisadas três épocas de semeadura dentro de cada material genético (Quadros 9, 10 e 11), verificou-se que, na maioria das características agrônomicas avaliadas na primeira época, foram obtidos os maiores valores, que foram significativamente superiores em relação aos demais. Também, observou-se que os menores valores foram encontrados na terceira época de plantio. De acordo com URBEN FILHO e SOUZA (1993), plantios realizados tardiamente podem promover encurtamento do ciclo da cultura devido à indução floral precoce promovida pelo período de dias curtos, ou seja, a planta entra no estágio reprodutivo sem ter acumulado matéria seca e porte suficientes para um bom desempenho produtivo no campo, principalmente as variedades mais sensíveis ao fotoperíodo, gerando menor produção de grãos. Esse fato indica que diferentes genes estão sendo envolvidos nas diferentes épocas de plantio, apontando para uma composição genética diferenciada entre os três conjuntos de materiais avaliados, isto é, o programa de retrocruzamentos,

na fase avaliada, ainda não foi suficiente para homogeneizar o conjunto gênico-base, indicando que não se está trabalhando, ainda, com linhas isogênicas.

Diversos fatores influenciam a melhor época de semeadura, como os ambientais, a exemplo do período de incidência de chuvas, temperatura, altitude, umidade relativa; e os culturais, como a duração do ciclo da soja, principalmente o fotoperíodo e a variedade a ser cultivada, pois muitos dos caracteres agrônômicos de diversas variedades diferem de acordo com a época de semeadura (SEDIYAMA et al., 1996).

Com relação ao efeito da eliminação genética das lipoxigenases das sementes, observou-se, pelo desempenho das linhas triplo-nulas (TN), quando comparadas com o das linhas triplo-positivas (TP) ou mesmo com o da variedade comercial, que não houve qualquer efeito deletério sobre as características agrônômicas. Pelo contrário, pôde-se observar a existência de linhas bastante promissoras entre as triplo-nulas, indicativo do sucesso do programa de retrocruzamentos monitorado por marcadores moleculares. Isso também foi observado por TAKETA (2000), que, estudando linhagens triplo-nulas do Programa de Melhoramento de Soja para Consumo Humano da UFV, obteve resultados que indicam que há linhagens TN com desempenho produtivo equivalente ao das variedades comerciais existentes. Ela verificou, também, que a ausência de três lipoxigenases nas sementes não afetou as características agrônômicas avaliadas. De acordo com PFEIFFER et al. (1992), isolinhas sem lipoxigenase 1 não trouxeram efeitos deletéricos em várias características agrônômicas estudadas e nem na germinação das sementes. Por sua vez, NARVEL et al. (1998), estudando linhagens sem as três lipoxigenases, observaram que nas características agrônômicas altura de planta, dias para maturação, peso de sementes e produção por planta e nos teores de óleo e proteínas das sementes não houve diferença significativa entre as linhagens e a variedade comercial estudadas.

Quadro 2 - Análise de variância das características agrônômicas da variedade comercial FT-Cristalina RCH e suas linhagens com ou sem lipoxigenases nas sementes, cultivadas em três épocas de semeadura

FV	GL	Quadrado Médio									
		NDF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	NSP	PRO	PCS
Época	2	20.237,56*	736,71*	42.082,52*	52.465,97*	429,34*	17.335,12*	83.169,74*	179.954,00	2.169,56	36,83
Mat. Genético	2	872,58**	35,05*	3.009,18**	3.607,19**	70,99	2.948,89**	199.468,70*	767.532,70	27.116,46*	146,12*
Ep. x MG	4	265,83**	100,49*	4.361,97**	680,32**	109,38*	2.256,75**	43.351,88**	156.104,20	3.713,79**	107,67*
Linha(Ep. MG)	81	34,57**	15,97**	902,46**	6,26**	22,41	870,70**	17.611,72**	80.846,49**	2.100,14**	19,80
Resíduo	810	4,78	3,39	69,71	6,26	15,22	90,92	9.522,22	37.802,98	1.085,20	13,63
C.V. (%)		2,99	11,30	10,63	1,58	19,92	10,30	55,47	57,02	60,69	23,21

* e ** Significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

FV: fontes de variação, GL: graus de liberdade, NDF: número de dias para florescimento, NNF: números de nós no florescimento, APF: altura da planta no florescimento, NDM: número de dias para maturação, APM: altura da planta na maturação, NNM: número de nós na maturação, NVG: número de vagens por planta, NSP: número de sementes por planta, PRO: peso total de sementes por planta, PCS: peso de 100 sementes e C.V.: coeficiente de variação.

Quadro 3 - Resumo da análise de variância das características agronômicas avaliadas na primeira época de semeadura (27/10/98) da variedade comercial de soja FT-Cristalina RCH e das suas linhagens com ou sem as três lipoxigenases nas sementes

FV	GL	Quadrado Médio									
		NDF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	NSP	PRO	PCS
Mat. Genético	2	9,77	27,43	1.079,59**	79,36	49,00**	793,44**	42.479,26	293.480,50	6.156,67	25,82**
Linhas/Mat. Gen.	27	24,94**	15,05**	1.593,89**	43,61**	12,39	1.535,11**	20.508,07	90.915,48	2.210,56	14,36
Lin./Cris. Com.	9	3,05	17,14**	2.516,16**	13,54	16,14**	2.522,31**	12.889,95	44.377,55	1.444,50	11,40
Lin./Cris. TP	9	37,22**	10,03	1.003,20**	47,09**	12,16	1.271,64**	9.910,08	50.947,20	964,78	8,99
Lin./Cris. TN	9	34,56**	17,97**	1.262,32**	70,20**	8,87	811,38**	38.724,18*	177.421,70*	4.222,42	22,68**
Resíduo	270	2,81	2,75	34,25	11,00	3,47	61,94	8.713,95	32.938,82	888,07	5,93
C. V. (%)		2,06	9,50	6,95	1,97	8,90	7,84	65,90	67,86	61,32	11,76

* e ** Significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

FV: fontes de variação, GL: graus de liberdade, NDF: número de dias para florescimento, NNF: números de nós no florescimento, APF: altura da planta no florescimento, NDM: número de dias para maturação, APM: altura da planta na maturação, NNM: número de nós na maturação, NVG: número de vagens por planta, NSP: número de sementes por planta, PRO: peso total de sementes por planta, PCS: peso de 100 sementes e C.V.: coeficiente de variação.

Quadro 4 - Resumo da análise de variância das características agronômicas avaliadas na segunda época de semeadura (18/11/98) da variedade comercial de soja FT-Cristalina RCH e das suas linhagens com ou sem as três lipoxigenases nas sementes

FV	GL	Quadrado Médio									
		NDF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	NSP	PRO	PCS
Mat. Genético	2	769,62**	200,64**	9.815,07**	9.815,07**	237,54	6.515,58*	101.734,30	238.175,60	12.500,15	110,09
Linhas/Mat. Gen.	27	22,25	17,77**	718,02**	718,02**	46,62	476,01**	20.515,06	92.637,95	2.545,42	10,13
Lin./Cris. Com.	9	13,47	15,80	15,80	116,13	10,95	79,62	13.189,79	50.928,84	1.142,33	11,73
Lin./Cris. TP	9	47,07**	23,31**	23,31**	1.082,29**	10,87	609,29**	21.955,80	114.685,50	2.635,28	6,49
Lin./Cris. TN	9	6,20	14,19	14,19	955,63**	118,03	739,12**	26.399,58	112.299,50	3.858,65	12,16
Resíduo	270	7,19	4,39	4,39	80,70	38,62	85,00	12.912,51	49.381,58	1.483,92	5,05
C. V. (%)		3,68	11,62	11,62	10,39	32,51	10,04	63,24	64,20	59,40	14,17

* e ** Significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

FV: fontes de variação, GL: graus de liberdade, NDF: número de dias para florescimento, NNF: números de nós no florescimento, APF: altura da planta no florescimento, NDM: número de dias para maturação, APM: altura da planta na maturação, NNM: número de nós na maturação, NVG: número de vagens por planta, NSP: número de sementes por planta, PRO: peso total de sementes por planta, PCS: peso de 100 sementes e C.V.: coeficiente de variação.

Quadro 5 - Resumo da análise de variância das características agrônômicas avaliadas na terceira época de semeadura (14/12/98) da variedade comercial de soja FT-Cristalina RCH e das suas linhagens com ou sem as três lipoxigenases nas sementes

FV	GL	Quadrado Médio									
		NDF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	NSP	PRO	PCS
Mat. Genético	2	624,82**	7,96	838,46	1.343,80**	3,20	153,37	141.959,80*	547.725,10*	15.886,23**	158,57**
Linhas/Mat. Gen.	27	56,53**	15,09	395,48	85,44**	8,23	600,97	11.812,03	58.985,99	1.544,43	8,39
Lin./Cris. Com.	9	18,89**	5,80	76,84	23,00**	8,31	200,36	9.036,65	38.855,73	1.088,03	3,88
Lin./Cris. TP	9	108,43**	32,96**	926,32**	65,18**	9,45	1.312,00**	16.722,58	77.032,29	1.951,26	6,12
Lin./Cris. TN	9	42,26**	6,52	183,29	168,14**	6,92	290,54	9.676,87	61.069,96	1.594,00	15,18
Resíduo	270	4,33	3,63	94,17	4,32	3,56	125,81	6.940,17	31.088,57	883,60	3,86
C.V. (%)		3,20	12,73	14,95	1,45	10,10	13,15	52,82	56,09	58,06	12,23

* e ** Significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

FV: fontes de variação, GL: graus de liberdade, NDF: número de dias para florescimento, NNF: números de nós no florescimento, APF: altura da planta no florescimento, NDM: número de dias para maturação, APM: altura da planta na maturação, NNM: número de nós na maturação, NVG: número de vagens por planta, NSP: número de sementes por planta, PRO: peso total de sementes por planta, PCS: peso de 100 sementes e C.V.: coeficiente de variação.

Quadro 6 - Estimativas das médias das características agrônômicas avaliadas na primeira época de semeadura (27/10/98) das linhas da variedade de soja FT-Cristalina RCH (comercial) e das suas linhagens com ou sem lipoxigenases nas sementes^{1/}

Material Genético	Linha	NDF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	NSP	PRO	PCS
Cristalina Comercial	1	81,5 a	19,4 a	100,4 a	169,4 a	23,3 a	117,8 a	182,9 a	355,1 a	58,29 a	16,51 a
Cristalina Comercial	2	81,7 a	18,6 ab	98,1 a	168,3 a	22,9 a	121,1 a	165,1 a	274,1 a	48,88 a	18,93 a
Cristalina Comercial	3	81,0 a	19,5 a	99,0 a	168,2 a	22,5 a	111,2 a	191,4 a	344,6 a	55,83 a	16,55 a
Cristalina Comercial	4	81,7 a	19,3 a	104,9 a	167,0 a	22,7 a	115,7 a	238,2 a	427,9 a	68,42 a	16,47 a
Cristalina Comercial	5	81,1 a	19,3 a	104,9 a	167,0 a	22,7 a	115,7 a	238,2 a	427,9 a	68,42 a	16,47 a
Cristalina Comercial	6	82,2 a	17,4 ab	73,1 b	170,3 a	20,2 a	86,7 b	144,1 a	262,0 a	37,63 a	15,09 a
Cristalina Comercial	7	82,2 a	17,4 ab	73,1 b	170,3 a	20,2 a	86,7 b	144,1 a	262,0 a	37,63 a	15,09 a
Cristalina Comercial	8	81,9 a	17,0 ab	73,6 b	168,2 a	20,7 a	88,6 b	137,7 a	244,6 a	35,69 a	14,35 a
Cristalina Comercial	9	82,4 a	16,3 ab	69,5 b	168,2 a	20,6 a	85,4 b	188,1 a	342,1 ^a	55,00 a	15,87 a
Cristalina Comercial	10	82,4 a	16,3 ab	69,5 b	168,2 a	20,6 a	85,4 b	188,1 a	342,1 a	55,00 a	15,87 a
Média		81,7	18,0	86,6	168,5	21,6	101,4	181,8	328,2	52,08	16,12
Cristalina TP	1	77,3 d	16,6 ab	85,9 bc	165,2 d	18,8 a	100,0 bc	163,1 a	296,9 a	48,67 a	15,89 a
Cristalina TP	2	81,7 abc	17,4 ab	91,4 ab	170,0 abc	21,2 a	110,9 ab	121,2 a	223,6 a	36,41 a	16,27 a
Cristalina TP	3	84,0 a	19,1 a	101,5 a	171,4 ab	22,3 a	121,4 a	185,8 a	352,9 a	55,26 a	15,43 a
Cristalina TP	4	79,3 cd	16,6 ab	82,2 bcd	167,7 cd	20,8 a	99,8 bc	143,5 a	279,8 a	39,55 a	14,90 a
Cristalina TP	5	82,4 ab	15,7 b	69,9 e	169,8 abc	19,2 a	88,4 cd	185,7 a	339,5 a	48,28 a	13,96 a
Cristalina TP	6	81,7 abc	16,3 b	71,1 de	173,1 a	18,8 a	85,7 d	165,8 a	310,1 a	50,74 a	15,77 a
Cristalina TP	7	80,2 bcd	16,2 b	72,1 de	169,4 bc	20,3 a	87,9 cd	155,2 a	283,9 a	45,71 a	16,86 a
Cristalina TP	8	82,5 ab	17,3 ab	78,2 cde	169,3 bc	20,2 a	94,1 cd	203,3 a	365,8 a	55,77 a	14,68 a
Cristalina TP	9	82,1 abc	18,1 ab	76,3 cde	169,0 bc	20,7 a	93,2 cd	208,3 a	434,3 a	62,68 a	13,97 a
Cristalina TP	10	82,5 ab	17,2 ab	76,4 cde	171,4 ab	20,1 a	91,3 cd	222,7 a	455,7 a	68,51 a	15,14 a
Média		81,4	17,0	80,0	169,6	20,2	97,3	175,5	334,2	51,16	15,29
Cristalina TN	1	80,1 bcde	17,2 abc	90,7 b	167,6 cd	21,1 a	107,8 abc	124,6 c	249,5 c	33,16 b	13,22 b
Cristalina TN	2	77,5 e	17,4 abc	94,0 b	164,0 e	21,1 a	111,3 ab	218,4 abc	415,3 bc	72,43 ab	17,88 a
Cristalina TN	3	81,8 abcd	19,7 a	110,3 a	166,4 de	22,7 a	120,2 a	180,0 bc	350,2 bc	57,86 ab	16,75 a
Cristalina TN	4	83,3 a	18,1 ab	85,4 bc	170,2 abc	21,4 a	104,7 bcd	155,4 bc	308,4 bc	47,02 b	14,67 a
Cristalina TN	5	79,7 cde	15,9 bc	78,6 cd	171,5 ab	20,9 a	101,2 bcde	209,2 abc	411,3 bc	62,28 ab	14,41 a
Cristalina TN	6	83,0 ab	16,2 bc	76,4 cd	168,2 bcd	20,1 a	92,9 de	230,3 abc	445,3 abc	70,04 ab	15,75 ab
Cristalina TN	7	81,8 abcd	17,6 ab	82,6 bc	166,6 de	20,4 a	96,6 cde	192,4 bc	362,5 bc	55,14 ab	15,23 ab
Cristalina TN	8	82,7 abc	17,8 ab	84,6 bc	166,8 cde	20,8 a	100,7 abc	205,0 bc	409,7 bc	57,95 ab	13,41 ab
Cristalina TN	9	79,5 de	14,9 c	68,7 d	165,3 d	19,2 a	89,3 e	345,5 a	697,0 a	98,40 a	13,78 b
Cristalina TN	10	81,9 abcd	18,0 ab	85,2 bc	172,1 a	21,7 a	101,7 bcde	278,2 ab	600,7 ab	97,59 a	15,96 b
Média		81,1	17,3	85,6	167,9	20,9	102,6	213,9	425,0	65,18	15,29

^{1/} Na coluna, as médias gerais, com as mesmas letras minúsculas, não diferem estatisticamente, entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Quadro 7 - Estimativas das médias das características agrônômicas avaliadas na segunda época de semeadura (18/11/98) das linhas da variedade de soja FT-Cristalina RCH (comercial) e das suas linhagens com ou sem lipoxigenases nas sementes^{1/}

Material Genético	Linha	NDF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	NSP	PRO	PCS
Cristalina Comercial	1	76,3 ab	18,8 a	77,3 a	160,0 b	19,9 a	84,4 a	134,9 a	296,0 a	46,27 a	15,56 a
Cristalina Comercial	2	74,5 b	17,9 ab	82,9 a	160,0 b	18,6 a	88,9 a	164,7 a	366,1 a	53,75 a	14,41 a
Cristalina Comercial	3	76,1 ab	17,8 ab	77,1 a	159,3 bc	18,8 a	82,9 a	205,6 a	427,5 a	57,80 a	13,28 a
Cristalina Comercial	4	75,0 ab	16,8 abc	76,1 a	162,8 b	18,2 a	83,3 a	108,9 a	235,5 a	33,19 a	13,83 a
Cristalina Comercial	5	75,5 ab	17,7 ab	81,4 a	156,2 c	19,0 a	88,9 a	179,1 a	301,4 a	48,77 a	16,12 a
Cristalina Comercial	6	73,8 b	16,9 abc	80,2 a	167,0 a	17,3 a	85,4 a	167,6 a	318,7 a	50,26 a	16,20 a
Cristalina Comercial	7	77,7 a	14,6 bc	72,4 a	167,0 a	17,2 a	83,3 a	101,5 a	203,1 a	29,32 a	15,10 a
Cristalina Comercial	8	74,4 b	15,7 bc	75,1 a	167,0 a	16,3 a	79,7 a	141,0 a	284,5 a	37,33 a	13,91 a
Cristalina Comercial	9	74,4 b	15,8 bc	76,6 a	167,0 a	17,5 a	84,4 a	141,8 a	296,0 a	43,12 a	14,84 a
Cristalina Comercial	10	75,0 ab	16,4 abc	82,2 a	167,0 a	18,2 a	86,6 a	91,8 a	192,0 a	26,19 a	13,30 a
Média		75,3	16,8	78,1	163,3	18,1	84,8	143,7	292,1	42,60	14,65
Cristalina TP	1	72,3 cd	17,0 bcd	73,8 d	167,0 a	17,7 a	80,0 d	216,5 a	402,5 ab	61,41 a	15,02 a
Cristalina TP	2	77,6 a	15,5 d	67,9 e	167,0 a	18,7 a	81,1 cd	269,6 a	546,4 a	83,91 a	15,47 a
Cristalina TP	3	75,8 ab	15,7 d	74,1 de	165,8 a	17,4 a	85,1 bcd	247,8 a	493,0 ab	77,16 a	15,84 a
Cristalina TP	4	74,7 abc	15,8 d	77,3 cde	167,0 a	18,3 a	87,4 bcd	191,0 a	344,6 ab	61,39 a	17,79 a
Cristalina TP	5	71,6 d	16,8 bcd	83,7 bcd	167,0 a	17,1 a	86,3 bcd	156,4 a	285,2 ab	46,97 a	16,88 a
Cristalina TP	6	74,2 bcd	16,3 cd	86,3 bc	167,0 a	17,3 a	94,4 abc	152,0 a	268,9 a	42,10 a	15,71 a
Cristalina TP	7	71,5 d	18,7 abc	102,0 a	167,0 a	19,2 a	105,8 a	216,9 a	424,5 ab	70,57 a	16,79 a
Cristalina TP	8	73,0 bcd	19,1 ab	92,2 ab	167,0 a	19,7 a	96,9 ab	152,3 a	273,4 ab	45,20 a	16,67 a
Cristalina TP	9	71,5 d	18,1 abcd	90,1 b	167,0 a	18,1 a	92,3 bcd	171,8 a	305,3 ab	49,74 a	16,42 a
Cristalina TP	10	71,2 d	19,7 a	89,9 b	165,8 a	20,1 a	91,7 bcd	270,1 a	525,7 ab	85,12 a	16,18 a
Média		73,3	17,3	83,7	166,8	18,4	90,1	204,4	386,9	62,36	16,28
Cristalina TN	1	71,6 a	18,0 c	90,8 cd	153,7 a	19,4 b	99,5 bc	175,4 ab	343,1 ab	61,02 ab	17,38 a
Cristalina TN	2	69,2 a	18,3 bc	91,7 bcd	155,2 a	18,5 b	93,3 bc	211,6 ab	356,2 ab	63,17 ab	16,77 a
Cristalina TN	3	69,6 a	19,5 abc	95,1 bcd	155,1 a	20,0 b	98,3 bc	230,8 a	453,0 a	81,44 ab	17,52 a
Cristalina TN	4	69,0 a	18,1 bc	84,6 d	154,9 a	18,9 b	91,5 c	250,4 a	509,7 a	81,19 ab	15,81 a
Cristalina TN	5	69,7 a	19,5 abc	91,6 bcd	154,9 a	20,1 b	97,4 bc	251,3 a	476,9 a	89,57 a	17,75 a
Cristalina TN	6	70,0 a	18,6 bc	94,2 bcd	155,9 a	18,9 b	95,5 bc	165,9 ab	295,7 ab	56,16 ab	18,08 a
Cristalina TN	7	69,8 a	20,7 ab	102,8 b	156,0 a	20,9 b	105,2 b	164,6 ab	304,3 ab	50,38 ab	16,58 a
Cristalina TN	8	69,2 a	20,3 abc	101,2 bc	155,3 a	30,3 a	101,6 b	211,4 ab	399,8 ab	61,65 ab	15,48 a
Cristalina TN	9	70,6 a	21,3 a	119,9 a	155,9 a	21,4 b	122,1 a	81,5 b	149,6 b	21,54 b	14,62 a
Cristalina TN	10	69,3 a	20,5 abc	102,0 bc	154,8 a	20,5 b	102,0 b	166,3 ab	305,6 ab	49,35 ab	16,22 a
Média		69,8	19,48	97,4	155,2	20,9	100,6	190,9	359,4	61,55	16,62

^{1/} Na coluna, as médias gerais, com as mesmas minúsculas, não diferem estatisticamente, entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Quadro 8 - Estimativas das médias das características agronômicas avaliadas na terceira época de semeadura (14/12/98) das linhas da variedade de soja FT-Cristalina RCH (comercial) e das suas linhagens com ou sem lipoxigenases nas sementes^{1/}

Material Genético	Linha	NDF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	NSP	PRO	PCS
Cristalina Comercial	1	65,8 abc	14,4 a	61,4 a	142,9 a	18,9 a	86,6 ab	098,6 a	206,6 a	31,75 a	15,35 a
Cristalina Comercial	2	64,3 abc	14,4 a	58,3 a	143,0 a	17,9 a	81,0 ab	135,2 a	279,8 a	42,18 a	14,67 a
Cristalina Comercial	3	66,9 ab	16,0 a	63,8 a	143,0 a	20,6 a	74,6 b	158,3 a	329,9 a	52,01 a	15,51 a
Cristalina Comercial	4	65,5 abc	15,5 a	64,3 a	143,0 a	19,2 a	87,8 ab	134,9 a	296,7 a	46,15 a	15,54 a
Cristalina Comercial	5	66,1 abc	15,8 a	65,3 a	145,1 a	19,4 a	88,2 a	124,0 a	262,4 a	39,44 a	14,42 a
Cristalina Comercial	6	65,8 abc	15,5 a	63,6 a	145,7 a	18,9 a	82,7 ab	176,8 a	377,7 a	58,88 a	15,30 a
Cristalina Comercial	7	63,3 c	14,7 a	61,9 a	146,0 a	18,8 a	85,9 ab	116,0 a	251,2 a	37,87 a	15,03 a
Cristalina Comercial	8	63,5 c	13,6 a	64,7 a	146,0 a	17,5 a	88,4 a	086,6 a	188,6 a	28,70 a	14,68 a
Cristalina Comercial	9	67,2 a	15,0 a	61,0 a	146,0 a	18,3 a	80,5 ab	107,0 a	235,7 a	33,59 a	14,02 a
Cristalina Comercial	10	64,1 bc	14,4 a	68,4 a	146,3 a	17,8 a	86,8 ab	084,5 a	183,3 a	26,01 a	13,78 a
Média		65,2	14,9	63,3	144,7	18,7	84,2	122,2	261,2	39,67	14,83
Cristalina TP	1	69,2 b	16,9 ab	78,1 ab	145,8 ab	19,6 a	94,5 ab	149,2 a	276,1 a	49,84 a	18,21 a
Cristalina TP	2	65,7 cd	14,2 cde	68,1 bcd	147,0 a	19,3 a	97,0 a	108,9 a	202,1 a	36,01 a	16,68 a
Cristalina TP	3	65,0 cd	15,1 cde	60,5 cde	146,9 a	19,3 a	81,4 bc	136,1 a	243,5 a	45,44 a	18,66 a
Cristalina TP	4	66,8 bc	14,9 bcde	58,9 de	147,0 a	19,1 a	80,2 c	215,3 a	399,8 a	66,21 a	16,49 a
Cristalina TP	5	66,7 bc	15,8 bcd	79,3 ab	147,0 a	20,1 a	103,9 a	098,2 a	164,9 a	29,73 a	18,33 a
Cristalina TP	6	63,0 d	14,5 bcde	72,3 abc	147,9 a	18,9 a	100,5 a	130,3 a	226,7 a	39,20 a	16,87 a
Cristalina TP	7	66,3 bc	12,6 e	54,9 e	148,7 a	17,0 a	73,8 c	130,6 a	225,6 a	40,78 a	17,10 a
Cristalina TP	8	72,7 a	16,7 abc	72,2 abc	143,2 bc	18,7 a	81,6 bc	168,1 a	309,7 a	53,29 a	17,14 a
Cristalina TP	9	65,2 cd	13,3 de	57,8 de	141,1 c	17,3 a	70,9 c	210,1 a	431,1 a	74,42 a	17,40 a
Cristalina TP	10	73,0 a	18,7 a	80,4 a	142,4 bc	19,1 a	82,8 bc	190,7 a	349,9 a	57,88 a	16,60 a
Média		67,4	15,3	68,2	145,7	18,8	86,7	153,7	282,9	49,28	17,35
Cristalina TN	1	66,2 a	15,4 a	60,5 ab	141,0 a	18,4 a	79,3 bc	231,1 a	473,8 a	74,80 a	15,53 a
Cristalina TN	2	61,9 cd	14,2 a	57,5 b	133,0 b	17,7 a	73,8 c	251,5 a	548,9 a	82,44 a	14,99 a
Cristalina TN	3	60,3 d	14,1 a	61,6 ab	133,0 b	18,3 a	84,3 abc	199,8 a	419,6 a	62,63 a	14,54 a
Cristalina TN	4	65,1 ab	14,7 a	58,6 b	141,0 a	18,0 a	84,5 abc	161,5 a	330,6 a	51,18 a	15,27 ab
Cristalina TN	5	60,3 d	15,5 a	65,0 ab	133,0 b	20,1 a	85,7 ab	171,6 a	336,4 a	53,22 a	15,44 ab
Cristalina TN	6	62,3 bcd	15,8 a	72,2 a	141,0 a	19,3 a	93,5 a	219,2 a	450,5 a	78,98 a	17,39 ab
Cristalina TN	7	60,0 d	13,9 a	61,6 ab	142,0 a	18,3 a	85,6 abc	215,8 a	429,1 a	78,77 a	18,04 a
Cristalina TN	8	63,5 abc	15,1 a	63,9 ab	142,0 a	18,5 a	89,6 ab	180,2 a	307,7 a	53,86 a	17,76 a
Cristalina TN	9	61,9 cd	13,3 a	64,3 ab	142,0 a	17,2 a	87,9 ab	161,8 a	332,5 a	54,01 a	15,91 ab
Cristalina TN	10	62,3 bcd	15,1 a	66,8 ab	141,1 a	19,1 a	85,4 abc	179,8 a	359,5 a	56,60 a	15,48 ab
Média		62,4	14,7	63,2	138,9	18,5	85,0	197,2	398,9	64,65	16,04

^{1/} Na coluna, as médias gerais, com as mesmas letras minúsculas, não diferem estatisticamente, entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Quadro 9 - Estimativas das médias das características agrônômicas avaliadas nas três épocas de semeadura (27/10/98, 18/11/98 e 14/12/98) das linhas da variedade de soja FT-Cristalina RCH (comercial)^{1/}

Material Genético	Época	NDF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	NSP	PRO	PCS
Cristalina Comercial	1	81,7 a	18,0 a	86,6 a	168,5 a	21,6 a	101,4 a	181,8 a	328,2 a	52,08 a	16,12 a
Cristalina Comercial	2	75,3 b	16,8 b	78,1 b	163,3 b	18,1 b	84,8 b	143,7 b	292,1 ab	42,60 ab	14,65 b
Cristalina Comercial	3	65,2 c	14,9 c	63,3 c	144,7 c	18,7 b	84,2 b	122,2 b	261,2 b	39,67 b	14,83 b

^{1/} Na coluna, as médias gerais, com as mesmas letras minúsculas, não diferem estatisticamente, entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

FV: fontes de variação, GL: graus de liberdade, NDF: número de dias para florescimento, NNF: números de nós no florescimento, APF: altura da planta no florescimento, NDM: número de dias para maturação, APM: altura da planta na maturação, NNM: número de nós na maturação, NVG: número de vagens por planta, NSP: número de sementes por planta, PRO: peso total de sementes por planta e PCS: peso de 100 sementes.

Quadro 10 - Estimativas das médias das características agrônômicas avaliadas nas três épocas de semeadura (27/10/98, 18/11/98 e 14/12/98) das linhagens da variedade de soja FT-Cristalina RCH com lipoxigenases nas sementes ou triplo-positivas (TP)^{1/}

Material Genético	Época	NDF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	NSP	PRO	PCS
Cristalina TP	1	81,4 a	17,0 a	80,0 b	169,6 a	20,2 a	97,3 a	175,5 ab	334,2 ab	51,16 b	15,29 b
Cristalina TP	2	73,3 b	17,3 a	83,7 a	166,8 b	18,4 b	90,1 b	204,4 a	386,9 a	62,36 a	16,28 a
Cristalina TP	3	67,4 c	15,3 b	68,2 c	145,7 c	18,8 b	86,7 c	153,7 b	282,9 b	49,28 b	17,35 a

^{1/} Na coluna, as médias gerais, com as mesmas letras minúsculas, não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

FV: fontes de variação, GL: graus de liberdade, NDF: número de dias para florescimento, NNF: números de nós no florescimento, APF: altura da planta no florescimento, NDM: número de dias para maturação, APM: altura da planta na maturação, NNM: número de nós na maturação, NVG: número de vagens por planta, NSP: número de sementes por planta, PRO: peso total de sementes por planta e PCS: peso de 100 sementes.

Quadro 11 - Estimativas das médias das características agrônômicas avaliadas nas três épocas de semeadura (27/10/98, 18/11/98 e 14/12/98) das linhagens da variedade de soja FT-Cristalina RCH sem lipoxigenases nas sementes ou triplo-nulas (TN)^{1/}

Material Genético	Época	NDF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	NSP	PRO	PCS
Cristalina TN	1	81,1 a	17,3 b	85,6 b	167,9 a	20,9 a	102,6 a	213,9 a	425,0 a	65,18 a	15,11 b
Cristalina TN	2	69,8 b	19,5 a	97,4 a	155,2 b	20,9 a	100,6 a	190,9 a	359,4 b	61,55 a	16,62 a
Cristalina TN	3	62,4 c	14,7 c	63,2 c	138,9 c	18,5 b	85,0 b	197,2 a	398,9 ab	64,65 a	16,04 ab

^{1/} Na coluna, as médias gerais, com as mesmas letras minúsculas, não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

FV: fontes de variação, GL: graus de liberdade, NDF: número de dias para florescimento, NNF: números de nós no florescimento, APF: altura da planta no florescimento, NDM: número de dias para maturação, APM: altura da planta na maturação, NNM: número de nós na maturação, NVG: número de vagens por planta, NSP: número de sementes por planta, PRO: peso total de sementes por planta e PCS: peso de 100 sementes.

Quanto à variabilidade dentro dos materiais, os resultados se mostraram bastante coerentes, uma vez que a variedade comercial foi mais homogênea que as linhagens oriundas de retrocruzamentos. Esse fato indica a presença de variabilidade genética entre linhas TN e entre linhas TP. A presença dessa variabilidade genética e de linhas TN com características de crescimento vegetativo semelhante ao do material comercial, porém com componentes de produção (NVP, NSP e PCS) indicativos de superioridade na produtividade de grãos, pode constituir-se em vantagem, pois poderão ser selecionadas linhas com ausência de lipoxigenases e agronomicamente superiores ao material original.

3.2. Variedade Doko-RC

O resumo das análises de variâncias dos dados referentes à variedade Doko-RC e às suas linhagens com e sem lipoxigenases está apresentado nos Quadros 12, 13 e 14. Como não houve efeito significativo da interação época de semeadura e material genético, foi estudada cada época de semeadura em separado. Observou-se que, nas três épocas de plantio, a análise de variância indicou significância do tipo de material genético (comercial), com ou sem lipoxigenases, sobre as características ligadas ao ciclo e crescimento das plantas, não havendo efeito do tipo de material genético sobre a produção de grãos (PRO) ou seus componentes (NVP, NSP e PCS). Analisando os quadros das médias das linhas (Quadros 15, 16 e 17), verificou-se que nas diferentes épocas de plantio houve variação do material genético que apresentou os maiores valores de médias, isto é, o programa de retrocruzamentos, na fase avaliada, ainda não foi suficiente para homogeneizar o conjunto gênico-base, indicando que não se está trabalhando, ainda, com linhas completamente isogênicas.

Quadro 12 - Resumo da análise de variância das características agrônômicas avaliadas na primeira época de semeadura (27/10/98) da variedade comercial de soja Doko-RC e das suas linhagens com ou sem as três lipoxigenases nas sementes

FV	GL	Quadrado Médio									
		NDF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	NSP	PRO	PCS
Mat. Genético	2	365,93**	21,83	911,04	144,75**	24,40	878,04	3.809,50	396,31	271,73	18,12
Linhas/Mat. Gen.	21	115,63	7,71	761,48**	32,86**	7,66	748,61**	14.254,96*	56.602,44	2.094,12	11,32
Lin./Doko Com.	7	86,04	13,14	1.051,65*	11,41	11,80	1.005,42*	13.747,98	59.750,78	2.239,99	8,32
Lin./Doko TP	7	118,95°	6,51	696,94**	40,88**	7,11	689,21**	18.571,34	70.400,38	2.519,67	9,05
Lin./Doko TN	7	141,91**	3,48	535,85**	46,28**	4,08	551,21**	10.445,55	39.656,17	1.522,70	16,60
Resíduo	216	26,55	4,22	106,96	5,56	4,28	108,04	8.530,53	30.986,34	989,26	6,49
C.V. (%)		5,77	12,30	11,92	1,41	12,37	11,94	58,48	60,09	60,77	14,47

°, * e ** Significativos a 10, 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

FV: fontes de variação, GL: graus de liberdade, NDF: número de dias para florescimento, NNF: números de nós no florescimento, APF: altura da planta no florescimento, NDM: número de dias para maturação, APM: altura da planta na maturação, NNM: número de nós na maturação, NVG: número de vagens por planta, NSP: número de sementes por planta, PRO: peso total de sementes por planta, PCS: peso de 100 sementes e C.V.: coeficiente de variação.

Quadro 13 - Resumo da análise de variância das características agrônômicas avaliadas na segunda época de semeadura (18/11/98) da variedade comercial de soja Doko-RC e das suas linhagens com ou sem as três lipoxigenases nas sementes

FV	GL	Quadrado Médio									
		NDF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	NSP	PRO	PCS
Mat. Genético	2	137,40**	34,54°	4.285,15* *	2,02**	35,45	4.962,00* *	835,09	15.346,29	601,30	6,04
Linhas/Mat. Gen.	21	13,99	8,04	237,98	1,64**	7,46	261,31	4.860,83	17.349,38	480,51	8,19
Lin./Doko Com.	7	13,68	8,21	337,00	4,91**	6,45	412,51	3.507,74	13.804,11	384,99	2,62
Lin./Doko TP	7	23,25*	10,19	197,80	0,00	10,19	197,80	7.503,30	28.848,61	944,95	12,95
Lin./Doko TN	7	5,05	5,73	179,14	0,00	5,73	173,63	3.571,45	9.395,42	111,59	9,01
Resíduo	216	4,88	4,26	114,34	0,02	4,15	113,55	8.952,86	33.461,71	1.117,24	8,67
C.V. (%)		2,37	12,63	12,55	0,83	12,42	12,45	58,02	60,94	60,63	15,80

* e ** Significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

FV: fontes de variação, GL: graus de liberdade, NDF: número de dias para florescimento, NNF: números de nós no florescimento, APF: altura da planta no florescimento, NDM: número de dias para maturação, APM: altura da planta na maturação, NNM: número de nós na maturação, NVG: número de vagens por planta, NSP: número de sementes por planta, PRO: peso total de sementes por planta, PCS: peso de 100 sementes e C.V.: coeficiente de variação.

Quadro 14 - Resumo da análise de variância das características agrônômicas avaliadas na terceira época de semeadura (14/12/98) da variedade comercial de soja Doko-RC e das suas linhagens com ou sem as três lipoxigenases nas sementes

FV	GL	Quadrado Médio									
		NDF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	NSP	PRO	PCS
Mat. Genético	2	35,28	141,55*	16.269,68 **	231,21*	117,71*	14.979,58 **	2.142,45	4.830,51	397,77	27,51
Linhas/Mat. Gen.	21	22,14	10,74	469,8167	115,9433	12,21	566,38**	7.411,17	31.160,41	1.236,39	7,47
Lin./Doko Com.	7	13,33	14,93°	282,16	138,63	11,03	377,62	4.687,05	15.639,30	750,48	12,64
Lin./Doko TP	7	26,14	10,33	729,48**	112,20*	15,82*	818,11**	10.974,80	56.936,32	2.165,04	3,63
Lin./Doko TN	7	26,96°	6,96	397,81	97,00	9,79	503,41°	6.571,65	20.905,62	793,66	6,14
Resíduo	216	5,83	3,25	113,17	3,71	3,33	136,41	4.646,01	17.333,89	616,98	6,28
C.V. (%)		3,50	11,73	15,62	1,30	11,25	16,09	49,93	50,09	51,68	13,88

°, * e ** Significativos a 10, 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

FV: fontes de variação, GL: graus de liberdade, NDF: número de dias para florescimento, NNF: números de nós no florescimento, APF: altura da planta no florescimento, NDM: número de dias para maturação, APM: altura da planta na maturação, NNM: número de nós na maturação, NVG: número de vagens por planta, NSP: número de sementes por planta, PRO: peso total de sementes por planta, PCS: peso de 100 sementes e C.V.: coeficiente de variação.

Quadro 15 - Estimativas das médias das características agrônômicas avaliadas na primeira época de semeadura (27/10/98) das linhas da variedade de soja Doko-RC (comercial) e das suas linhagens com ou sem lipoxigenases nas sementes^{1/}

Material Genético	Linha	NDF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	NSP	PRO	PCS
Doko-RC Comercial	1	94,9 a	15,6 ab	80,4 c	170,0 a	15,8 a	82,1 cd	181,9 a	342,0 a	61,27 a	19,13 a
Doko-RC Comercial	2	90,6 ab	18,3 ab	105,4 a	167,6 a	18,3 a	105,4 a	156,8 a	281,0 a	50,28 a	18,71 a
Doko-RC Comercial	3	93,0 a	18,5 a	103,4 ab	168,2 a	18,5 a	103,4 ab	197,5 a	363,2 a	69,82 a	18,69 a
Doko-RC Comercial	4	85,1 b	17,6 ab	89,7 bc	168,2 a	17,6 a	89,7 bcd	207,7 a	381,4 a	71,48 a	18,63 a
Doko-RC Comercial	5	92,5 ab	18,0 ab	90,2 bc	167,0 a	18,0 a	90,2 bcd	203,9 a	352,9 a	62,29 a	17,84 a
Doko-RC Comercial	6	92,5 a	17,8 ab	95,9 ab	169,3 a	17,8 a	95,9 abc	116,8 a	195,0 a	34,85 a	18,34 a
Doko-RC Comercial	7	91,7 a	15,7 ab	79,2 c	167,6 a	15,8 a	79,2 d	121,2 a	188,0 a	33,85 a	16,75 a
Doko-RC Comercial	8	93,2 a	16,6 ab	81,1 c	167,0 a	16,6 a	81,1 d	139,7 a	244,8 a	43,67 a	16,75 a
Média		91,7 A	17,3 A	90,7 A	168,1 A	17,3 A	90,9 A	165,7 A	293,5 A	53,44 A	18,13 A
Doko-RC TP	1	87,6 b	17,6 a	82,2 ab	165,2 c	17,8 a	86,1 abc	194,0 a	362,6 a	58,44 ab	16,55 a
Doko-RC TP	2	87,1 b	16,8 a	89,9 a	165,2 c	16,8 a	89,9 a	198,1 a	394,4 a	72,10 ab	17,97 a
Doko-RC TP	3	85,9 b	16,6 a	94,6 a	164,6 c	16,6 a	94,6 a	154,9 a	295,0 a	53,18 ab	17,73 a
Doko-RC TP	4	86,4 b	17,2 a	87,8 a	165,8 bc	17,2 a	87,8 a	139,1 a	262,6 a	46,56 ab	17,47 a
Doko-RC TP	5	85,9 b	15,7 a	73,4 b	165,8 bc	15,7 a	73,4 bc	123,4 a	236,7 a	37,19 b	15,94 a
Doko-RC TP	6	88,4 b	15,2 a	71,2 b	164,6 c	15,2 a	71,2 c	124,3 a	235,6 a	41,84 ab	17,44 a
Doko-RC TP	7	92,0 ab	17,2 a	90,0 a	168,8 ab	17,2 a	90,0 a	216,8 a	401,2 a	75,47 a	18,40 a
Doko-RC TP	8	95,6 a	16,8 a	87,7 a	170,0 a	16,8 a	87,7 a	094,9 a	170,2 a	31,65 b	18,89 a
Média		88,6 B	16,6 AB	84,6 B	166,2 B	16,7 AB	85,1 B	155,7 A	294,8 A	52,05 A	17,53 AB
Doko-RC TN	1	92,4 a	17,3 a	90,0 abc	168,2 ab	17,4 a	91,0 abc	168,0 a	317,6 a	53,16 a	16,86 ab
Doko-RC TN	2	84,3 bc	16,7 a	94,5 a	164,6 c	16,6 a	94,5 a	109,8 a	206,2 a	34,97 a	17,43 ab
Doko-RC TN	3	86,1 abc	16,2 a	92,7 ab	164,0 c	16,2 a	92,7 ab	143,1 a	281,7 a	52,71 a	19,25 a
Doko-RC TN	4	81,6 c	15,9 a	79,2 bcd	164,0 c	15,9 a	79,2 bcd	144,6 a	290,2 a	49,84 a	16,94 ab
Doko-RC TN	5	92,6 a	15,5 a	77,7 cd	169,4 a	15,5 a	77,7 cd	208,2 a	403,1 a	71,47 a	17,54 ab
Doko-RC TN	6	87,2 abc	15,6 a	74,7 d	164,0 c	15,4 a	74,7 d	167,8 a	315,9 a	52,00 a	16,87 ab
Doko-RC TN	7	87,4 abc	16,4 a	84,1 abcd	164,0 c	16,4 a	84,1 abcd	112,6 a	210,2 a	31,30 a	14,62 b
Doko-RC TN	8	89,0 ab	16,2 a	87,6 abcd	165,8 bc	16,2 a	87,6 abcd	165,5 a	298,8 a	52,87 a	17,77 ab
Média		87,6 B	16,2 B	85,1 B	165,5 B	16,2 B	85,2 B	152,4 A	290,5 A	49,78 A	17,14 B

^{1/} Na coluna, as médias gerais, com as mesmas letras maiúsculas, e das linhas dentro de cada tipo de material genético, com as mesmas letras minúsculas, não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Quadro 16 - Estimativas das médias das características agronômicas avaliadas na segunda época de semeadura (18/11/98) da variedade de soja Doko-RC (comercial) e das suas linhagens com ou sem lipoxigenases nas sementes^{1/}

Material Genético	Linha	NDF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	NSP	PRO	PCS
Doko-RC Comercial	1	80,8 ab	16,9 a	97,0 ab	153,0 c	16,7 a	100,2 ab	152,6 a	297,0 a	54,15 a	18,20 a
Doko-RC Comercial	2	80,8 ab	17,0 a	100,1 a	154,8 b	17,1 a	101,7 a	161,6 a	283,7 a	54,83 a	18,83 a
Doko-RC Comercial	3	82,1 ab	15,3 a	91,6 ab	155,0 a	16,3 a	94,0 abc	156,9 a	297,8 a	54,12 a	18,18 a
Doko-RC Comercial	4	82,9 ab	17,8 a	98,0 ab	155,0 a	17,9 a	98,8 abc	176,9 a	313,9 a	59,06 a	19,13 a
Doko-RC Comercial	5	82,9 ab	15,5 a	83,6 b	155,0 a	15,6 a	84,4 c	125,0 a	229,2 a	42,02 a	18,26 a
Doko-RC Comercial	6	80,5 b	16,8 a	93,8 ab	155,0 a	16,8 a	93,8 abc	180,9 a	341,0 a	63,86 a	18,05 a
Doko-RC Comercial	7	83,5 a	16,4 a	86,2 ab	155,0 a	16,4 a	86,2 bc	181,1 a	345,1 a	53,27 a	17,53 a
Doko-RC Comercial	8	81,1 ab	15,4 a	90,0 ab	155,0 a	15,4 a	90,0 abc	167,8 a	277,9 a	52,47 a	18,83 a
Média		81,8 A	16,4 A	92,5 A	154,7 B	16,5 A	93,6 A	162,8 A	298,2 A	54,22 A	18,33 A
Doko-RC TP	1	78,5 b	16,3 ab	81,1 a	155,0 a	16,3 a	81,1 a	163,0 a	292,9 a	53,39 a	17,56 b
Doko-RC TP	2	79,4 ab	17,1 a	85,2 a	155,0 a	17,1 a	85,2 a	195,3 a	385,2 a	64,55 a	18,47 ab
Doko-RC TP	3	78,4 b	14,3 b	76,9 a	155,0 a	14,3 a	76,9 a	137,0 a	248,9 a	46,71 a	18,60 ab
Doko-RC TP	4	80,1 ab	15,7 ab	72,1 a	155,0 a	15,7 a	72,1 a	173,8 a	341,8 a	62,68 a	18,76 ab
Doko-RC TP	5	78,4 b	14,3 b	76,9 a	155,0 a	14,3 a	76,9 a	137,0 a	248,9 a	46,71 a	18,60 ab
Doko-RC TP	6	80,1 ab	15,7 ab	72,1 a	155,0 a	15,7 a	72,1 a	173,8 a	341,8 a	62,68 a	18,73 ab
Doko-RC TP	7	82,6 a	16,6 ab	80,1 a	155,0 a	16,6 a	80,1 a	210,3 a	375,5 a	74,85 a	21,51 a
Doko-RC TP	8	77,9 b	15,4 ab	78,8 a	155,0 a	15,4 a	78,8 a	141,1 a	284,3 a	54,13 a	19,09 ab
Média		79,4 B	15,7 B	77,9 B	155,0 A	15,7 B	77,9 C	166,4 A	314,9 A	58,21 A	18,97 A
Doko-RC TN	1	82,7 a	18,2 a	91,8 a	155,0 a	18,2 a	91,5 a	177,2 a	295,0 a	48,85 a	16,96 a
Doko-RC TN	2	81,7 a	17,4 a	86,4 a	155,0 a	17,4 a	86,4 a	138,2 a	253,7 a	52,06 a	19,51 a
Doko-RC TN	3	80,7 a	16,4 a	83,8 a	155,0 a	16,4 a	83,8 a	177,3 a	330,9 a	56,86 a	18,37 a
Doko-RC TN	4	81,7 a	17,4 a	86,4 a	155,0 a	17,4 a	86,4 a	138,2 a	253,7 a	52,06 a	19,51 a
Doko-RC TN	5	80,7 a	16,4 a	83,8 a	155,0 a	16,4 a	83,8 a	177,3 a	330,9 a	56,86 a	17,75 a
Doko-RC TN	6	81,0 a	16,1 a	89,7 a	155,0 a	16,1 a	89,7 a	154,0 a	268,8 a	51,69 a	19,19 a
Doko-RC TN	7	81,6 a	17,6 a	80,6 a	155,0 a	17,6 a	80,6 a	141,2 a	276,8 a	48,93 a	18,27 a
Doko-RC TN	8	82,2 a	16,4 a	79,4 a	155,0 a	16,4 a	79,4 a	176,3 a	289,6 a	56,33 a	19,47 a
Média		81,5 A	17,0 A	85,2 A	155,0 A	17,0 A	85,2 B	160,0 A	287,4 A	52,95 A	18,61 A

^{1/} Na coluna, as médias gerais, com as mesmas letras maiúsculas, e das linhas dentro de cada tipo de material genético, com as mesmas letras minúsculas, não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Quadro 17 - Estimativas das médias das características agrônômicas avaliadas na terceira época de semeadura (14/12/98) da variedade de soja Doko-RC (comercial) e das suas linhagens com ou sem lipoxigenases nas sementes^{1/}

Material Genético	Linha	NDF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	NSP	PRO	PCS
Doko-RC Comercial	1	69,7 a	16,3 ab	83,8 ab	143,0 c	17,9 ab	92,0 a	131,8 a	258,4 a	45,76 a	17,90 a
Doko-RC Comercial	2	71,4 a	16,5 ab	80,0 ab	143,0 c	17,4 ab	84,9 ab	123,3 a	225,2 a	42,24 a	18,31 a
Doko-RC Comercial	3	71,8 a	17,4 ab	88,7 a	148,0 b	18,6 a	95,9 a	144,7 a	287,4 a	48,99 a	17,25 a
Doko-RC Comercial	4	69,1 a	18,3 a	86,9 ab	149,0 b	18,1 ab	88,7 ab	136,1 a	261,5 a	51,12 a	20,42 a
Doko-RC Comercial	5	68,7 a	18,5 a	90,9 a	143,0 c	18,5 a	90,9 ab	124,5 a	236,5 a	42,41 a	17,06 a
Doko-RC Comercial	6	69,4 a	15,5 b	82,1 ab	149,0 b	15,9 b	85,7 ab	144,7 a	281,9 a	52,71 a	18,67 a
Doko-RC Comercial	7	68,9 a	16,6 ab	83,4 ab	150,0 ab	16,6 ab	83,4 ab	136,3 a	266,6 a	49,02 a	18,40 a
Doko-RC Comercial	8	69,5 a	15,1 b	74,0 b	152,6 a	16,2 ab	75,9 b	191,4 a	354,7 a	69,48 a	19,55 a
Média		69,8 A	16,8 A	83,7 A	147,2 C	17,4 A	87,2 A	141,6 A	271,5 A	50,21 A	18,43 A
Doko-RC TP	1	66,0 c	13,9 ab	60,9 ab	149,9 bc	14,9 ab	65,3 ab	106,5 a	190,5 b	36,00 b	17,71 a
Doko-RC TP	2	69,4 ab	13,7 ab	55,7 ab	153,0 a	14,0 ab	58,1 abc	104,8 a	197,9 b	36,31 b	18,21 a
Doko-RC TP	3	68,3 abc	14,7 a	64,5 a	153,0 a	15,8 a	69,8 a	113,5 a	214,9 b	38,68 b	17,35 a
Doko-RC TP	4	70,0 a	14,8 a	57,9 ab	149,0 c	16,4 a	63,1 ab	105,5 a	199,5 b	36,71 b	18,29 a
Doko-RC TP	5	69,8 ab	15,4 a	60,4 ab	154,0 a	16,1 a	67,5 ab	135,9 a	271,0 ab	51,77 ab	18,67 a
Doko-RC TP	6	66,6 bc	12,0 b	38,3 c	149,8 bc	12,6 b	43,0 c	121,3 a	248,1 ab	46,32 ab	18,68 a
Doko-RC TP	7	69,1 abc	14,1 ab	48,2 bc	143,5 d	14,5 ab	50,9 bc	192,9 a	401,1 a	75,31 a	18,57 a
Doko-RC TP	8	70,4 a	14,4 ab	60,2 ab	151,8 ab	15,5 a	62,7 ab	169,6 a	333,3 ab	64,07 ab	19,28 a
Média		68,7 B	14,1 C	55,8 C	150,5 A	15,0 C	60,0 C	131,2 A	257,0 A	48,14 A	18,33 A
Doko-RC TN	1	69,7 a	14,5 ab	57,6 b	149,6 a	15,4 b	64,7 b	195,4 a	365,7 a	67,31 a	17,81 a
Doko-RC TN	2	69,9 a	15,5 ab	58,4 b	149,6 a	16,7 ab	64,6 b	142,9 a	270,3 a	45,34 a	16,34 a
Doko-RC TN	3	69,8 a	15,3 ab	66,5 ab	150,0 a	16,3 ab	72,5 ab	128,7 a	249,2 a	41,94 a	16,76 a
Doko-RC TN	4	69,7 a	15,8 ab	66,2 ab	150,0 a	17,2 ab	73,7 ab	124,8 a	241,9 a	41,19 a	17,09 a
Doko-RC TN	5	69,6 a	16,5 a	74,7 a	150,0 a	17,9 a	82,2 a	116,1 a	235,0 a	40,61 a	16,97 a
Doko-RC TN	6	66,2 b	13,8 b	57,7 b	149,9 a	14,9 b	59,9 b	139,4 a	254,5 a	45,25 a	17,10 a
Doko-RC TN	7	66,1 b	14,9 ab	69,4 ab	143,0 b	15,6 ab	75,0 ab	129,0 a	246,5 a	43,85 a	18,34 a
Doko-RC TN	8	68,0 ab	15,9 ab	69,3 ab	143,0 b	16,2 ab	71,7 ab	120,3 a	223,8 a	41,77 a	18,62 a
Média		68,6 B	15,3 B	65,0 B	148,1 B	16,3 B	70,5 B	137,1 A	260,9 A	45,90 A	17,40 B

^{1/} Na coluna, as médias gerais, com as mesmas letras maiúsculas, e das linhas dentro de cada tipo de material genético, com as mesmas letras minúsculas, não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Com relação ao efeito da eliminação genética das lipoxigenases das sementes da variedade Doko-RC, observou-se, como na FT-Cristalina, pelo desempenho das linhas triplo-nulas (TN), quando comparadas com o das linhas triplo-positivas (TP), ou mesmo com o da variedade comercial, que não houve qualquer efeito deletério sobre as características agronômicas, com as linhas apresentando comportamento semelhante ao do material comercial, indicativo de recuperação do conjunto gênico-base, pelos retrocruzamentos assistidos por marcadores moleculares. Quanto à variabilidade dentro dos materiais, também nessa variedade os resultados se mostraram bastante coerentes, uma vez que a variedade comercial foi mais homogênea que as linhagens oriundas de retrocruzamentos, porém com menor frequência. Aliás, quanto aos componentes de produção e à própria produção de grãos, as linhas TN se mostraram homogêneas entre si, o que foi evidenciado pela ausência de diferenças significativas entre as médias das linhas. Esse fato indica a ausência de maior variabilidade genética entre as linhas TN, com respeito aos fatores de produção.

No entanto, ainda há certa variabilidade genética quanto aos caracteres relacionados com o crescimento e desenvolvimento da planta, possibilitando a seleção de materiais de mesma produtividade, porém com características agronômicas diferenciadas e até superiores, fato também relatado por TAKETA (2000).

3.3. Variedade IAC-12

O resumo das análises de variância dos dados referentes à variedade IAC-12 e às suas linhagens com e sem lipoxigenases está apresentado nos Quadros 18, 19 e 20. O mesmo ocorreu com a variedade IAC-12, na qual não houve efeito da interação entre época de semeadura e material genético. Assim, foi analisada cada época em

separado, estudando-se o comportamento dentro de três épocas. Observou-se que, na primeira e na segunda época de plantio, as análises de variância indicaram significância do tipo de material genético, comercial, com ou sem lipoxigenases, apenas sobre a altura da planta na maturação (APM). Na terceira época, houve efeito sobre as variáveis relacionadas com o florescimento e a altura de plantas. Em nenhuma época houve efeito sobre a maturação da planta ou sobre qualquer componente de produção. Na análise mais detalhada das linhagens dentro de cada tipo de material genético (Quadros 21, 22 e 23), verificaram-se homogeneidade entre os materiais e variação de baixa frequência entre linhagens dentro de determinado material, com maior diferenciação entre linhagens na segunda época de plantio. Aparentemente, houve eficiência na recuperação do conjunto gênico-base pelos retrocruzamentos.

Novamente, a eliminação genética das lipoxigenases das sementes não causou qualquer efeito deletério sobre as suas características agronômicas, com as linhas TN se apresentando bastante similares ao material original e às linhas TP.

Com relação à variabilidade dentro dos materiais, observou-se que o material comercial era muito homogêneo. As linhagens dentro de TN e TP também se apresentaram homogêneas entre si, indicando ausência de maiores variabilidades genéticas entre e dentro dos materiais estudados. Houve certa variação dos componentes de produção, entre linhas TN, na segunda época de plantio, evidenciando-se a possibilidade de seleção para essas características. No geral, verificou-se grande eficiência na recuperação do germoplasma da variedade comercial nessa variedade.

Quadro 18 - Resumo da análise de variância das características agrônômicas avaliadas na primeira época de semeadura (27/10/98) da variedade comercial de soja IAC-12 e das suas linhagens com ou sem as três lipoxigenases nas sementes

FV	GL	Quadrado Médio									
		NNF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	P	PRO	PCS
Mat. Genético	2	19,60	3,56	231,66	0,00	10,13	1.098,76**	6.451,11	22.511,37	677,99	0,00
Linhas/Mat. Gen.	3	6,80	5,93	152,95	0,00	7,82	89,60	6.405,51	24.875,10	813,93	4,74
Lin./IAC Com.	3	5,80	6,30	103,53	0,00	10,82	45,67	11.333,50	53.188,81	1.347,21	0,76
Lin./IAC TP	3	4,60	6,33	291,30	0,00	4,42	188,42	6.336,76	16.154,86	917,13	11,76
Lin./IAC TN	3	10,00	5,16	64,02	0,00	8,22	34,70	1.546,27	5.281,62	177,47	1,71
Resíduo	108	2,41	2,83	47,97	0,00	2,93	55,66	4.434,63	21.212,43	604,83	2,86
C.V. (%)		2,33	13,14	13,58	0,00	11,01	11,06	41,31	42,31	43,25	10,25

* Significativo a 1% de probabilidade.

FV: fontes de variação, GL: graus de liberdade, NDF: número de dias para florescimento, NNF: números de nós no florescimento, APF: altura da planta no florescimento, NDM: número de dias para maturação, APM: altura da planta na maturação, NNM: número de nós na maturação, NVG: número de vagens por planta, NSP: número de sementes por planta, PRO: peso total de sementes por planta, PCS: peso de 100 sementes e C.V.: coeficiente de variação.

Quadro 19 - Resumo da análise de variância das características agrônômicas avaliadas na segunda época de semeadura (18/11/98) da variedade comercial de soja IAC-12 e das suas linhagens com ou sem as três lipoxigenases nas sementes

FV	GL	Quadrado Médio									
		NNF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	P	PRO	PCS
Mat. Genético	2	4,43	0,41	59,02	38,03**	0,52	27,86	4.561,65	421,53	187,29	35,52
Linhas/Mat. Gen.	3	5,33	7,45	434,77	0,12	6,05	473,65	17.415,05	119.285,90	2.783,91	14,17
Lin./IAC Com.	3	4,09	4,37	590,22	0,10	3,77	667,49	17.617,50	158.267,40	3.698,14	0,52
Lin./IAC TP	3	5,49	7,16	215,23	0,00	5,09	275,37	14.383,49	72.007,29	1.292,88	6,38
Lin./IAC TN	3	6,42	10,83	498,87	0,27	9,29	478,09	20.244,16	127.583,00	3.360,72	35,60
Resíduo	108	2,80	4,37	89,95	0,08	4,53	99,07	7.700,46	38.973,34	1.098,22	5,26
C.V. (%)		2,35	14,84	18,09	0,20	14,84	18,71	57,74	60,30	63,01	14,45

* Significativo a 1% de probabilidade.

FV: fontes de variação, GL: graus de liberdade, NDF: número de dias para florescimento, NNF: números de nós no florescimento, APF: altura da planta no florescimento, NDM: número de dias para maturação, APM: altura da planta na maturação, NNM: número de nós na maturação, NVG: número de vagens por planta, NSP: número de sementes por planta, PRO: peso total de sementes por planta, PCS: peso de 100 sementes e C.V.: coeficiente de variação.

Quadro 20 - Resumo da análise de variância das características agrônômicas avaliadas na terceira época de semeadura (14/12/98) da variedade comercial de soja IAC-12 e das suas linhagens com ou sem as três lipoxigenases nas sementes

FV	GL	Quadrado Médio									
		NNF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	P	PRO	PCS
Mat. Genético	2	44,93**	72,91**	7.434,23**	0,00	64,93**	8.078,94**	19.569,61	21.296,56	114,59	36,44
Linhas/Mat. Gen.	9	1,18	1,10	46,86	0,00	0,16	118,20	3.172,05	15.199,76	291,95	1,52
Lin./IAC Com.	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Lin./IAC TP	3	3,53	3,29	140,57	0,00	0,47	354,60	9.516,16	45.599,28	875,85	4,55
Lin./IAC TN	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Resíduo	108	1,57	2,48	101,18	0,00	3,12	123,28	2.386,86	20.218,59	372,81	6,09
C.V. (%)		2,32	13,75	25,80	0,00	14,75	26,35	50,99	63,95	56,19	15,51

* Significativo a 1% de probabilidade.

FV: fontes de variação, GL: graus de liberdade, NDF: número de dias para florescimento, NNF: números de nós no florescimento, APF: altura da planta no florescimento, NDM: número de dias para maturação, APM: altura da planta na maturação, NNM: número de nós na maturação, NVG: número de vagens por planta, NSP: número de sementes por planta, PRO: peso total de sementes por planta, PCS: peso de 100 sementes e C.V.: coeficiente de variação.

Quadro 21 - Estimativas das médias das características agrônômicas avaliadas na primeira época de semeadura (27/10/98) da variedade de soja IAC-12 (comercial) e das suas linhagens com ou sem lipoxigenases nas sementes^{1/}

Material Genético	Linha	NDF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	NSP	PRO	PCS
IAC-12 Comercial	1	66,4 b	13,8 a	56,6 a	102,0 a	16,2 ab	70,1 a	141,8 a	315,6 a	50,49 a	16,13 a
IAC-12 Comercial	2	67,7 ab	12,1 a	49,4 a	102,0 a	14,8 b	67,3 a	122,1 a	262,3 a	43,82 a	16,52 a
IAC-12 Comercial	3	68,2 a	13,6 a	53,7 a	102,0 a	16,8 a	72,4 a	196,1 a	420,7 a	69,05 a	16,64 a
IAC-12 Comercial	4	67,3 ab	12,7 a	50,7 a	102,0 a	14,7 b	69,0 a	128,5 a	270,0 a	45,33 a	16,76 a
Média		67,4 A	13,2 A	53,2 A	102,0 A	15,9 A	69,9 A	153,3 B	332,9 A	54,45 A	16,43 A
IAC-12 TP	1	65,8 a	13,0 a	49,7 ab	102,0 a	16,0 a	67,0 b	161,9 a	365,8 a	55,03 a	15,16 b
IAC-12 TP	2	66,1 a	13,7 a	56,9 a	102,0 a	16,6 a	76,9 a	209,2 a	412,2 a	73,36 a	17,67 a
IAC-12 TP	3	67,3 a	13,1 a	56,3 a	102,0 a	16,4 a	72,0 ab	161,9 a	353,3 a	59,67 a	17,03 ab
IAC-12 TP	4	66,0 a	11,8 a	45,7 b	102,0 a	15,1 a	68,8 ab	154,3 a	314,7 a	51,53 a	16,21 ab
Média		66,4 B	13,3 A	54,3 A	102,0 A	16,3 A	72,0 A	177,7 A	377,1 A	62,68 A	16,61 A
IAC-12 TN	1	67,2 a	11,7 a	45,5 a	102,0 a	15,7 ab	62,8 a	160,1 a	334,0 a	56,83 a	17,08 a
IAC-12 TN	2	66,0 ab	13,4 a	47,6 a	102,0 a	15,5 ab	63,2 a	160,3 a	354,7 a	57,65 a	16,26 a
IAC-12 TN	3	66,4 ab	12,6 a	51,6 a	102,0 a	13,7 b	59,3 a	182,9 a	385,9 a	64,59 a	16,50 a
IAC-12 TN	4	64,8 b	12,2 a	48,2 a	102,0 a	15,2 a	60,5 a	155,1 a	341,1 a	54,95 a	16,16 a
Média		66,5 B	12,6 B	48,2 B	102,0 A	15,0 B	61,8 B	167,8 AB	358,2 A	59,69 A	16,61 A

^{1/} Na coluna, as médias gerais, com as mesmas letras maiúsculas, e das linhas dentro de cada tipo de material genético, com as mesmas letras minúsculas, não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Quadro 22 - Estimativas das médias das características agronômicas avaliadas na segunda época de semeadura (18/11/98) da variedade de soja IAC-12 (comercial) e das suas linhagens com ou sem lipoxigenases nas sementes^{1/}

Material Genético	Linha	NDF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	NSP	PRO	PCS
IAC-12 Comercial	1	71,4 a	13,4 a	61,7 a	140,0 a	13,7 a	63,2 a	101,6 a	188,2 b	29,85 b	14,87 a
IAC-12 Comercial	2	72,5 a	14,6 a	49,9 b	140,0 a	15,0 a	52,2 ab	127,1 a	269,6 ab	42,18 ab	14,74 a
IAC-12 Comercial	3	71,8 a	13,8 a	43,4 b	140,0 a	14,2 a	43,6 b	144,1 a	357,4 ab	55,85 ab	15,26 a
IAC-12 Comercial	4	71,0 a	14,8 a	49,1 b	139,8 a	14,9 a	49,9 b	200,6 a	482,0 a	74,69 a	15,08 a
Média		71,9 A	13,9 A	51,7 A	140,0 A	14,3 A	53,0 A	124,3 B	217,7 B	42,63 B	14,96 B
IAC-12 TP	1	71,0 a	14,3 a	51,8 ab	138,0 a	14,6 a	53,0 ab	201,0 a	440,7 a	64,72 a	14,80 a
IAC-12 TP	2	71,7 a	12,9 a	47,3 b	138,0 a	13,2 a	47,2 b	126,7 a	275,5 a	44,22 a	15,41 a
IAC-12 TP	3	71,4 a	13,8 a	58,2 a	138,0 a	14,3 a	59,9 a	115,7 a	253,6 a	41,10 a	16,21 a
IAC-12 TP	4	70,0 a	14,9 a	54,9 ab	138,0 a	14,8 a	54,9 ab	151,3 a	353,3 a	58,85 a	16,58 a
Média		71,4 AB	13,7 A	52,4 A	138,0 C	14,0 A	53,4 A	147,8 B	323,3 AB	50,01 B	15,47 B
IAC-12 TN	1	70,1 a	15,6 a	55,4 a	139,0 a	15,7 a	55,8 a	176,2 ab	378,9 ab	62,99 ab	16,18 b
IAC-12 TN	2	71,2 a	13,5 a	57,1 a	138,8 a	14,1 a	57,1 a	206,7 a	430,3 a	66,01 a	15,62 b
IAC-12 TN	3	71,8 a	13,3 a	42,7 b	139,2 a	13,4 a	43,3 b	172,3 ab	330,1 ab	63,20 ab	19,67 a
IAC-12 TN	4	71,8 a	14,2 a	57,6 a	139,0 a	14,3 a	58,1 a	100,5 b	169,2 b	27,50 b	15,98 b
Média		71,0 B	14,1 A	51,7 A	139,0 B	14,4 A	52,1 A	185,1 A	379,8 A	64,06 A	17,16 A

^{1/} Na coluna, as médias gerais, com as mesmas letras maiúsculas, e das linhas dentro de cada tipo de material genético, com as mesmas letras minúsculas, não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Quadro 23 - Estimativas das médias das características agrônômicas avaliadas na terceira época de semeadura (14/12/98) das linhas da variedade de soja IAC-12 (comercial) e das suas linhagens com ou sem lipoxigenases nas sementes^{1/}

Material Genético	Linha	NDF	NNF	APF	NDM	NNM	APM	NVP	NSP	PRO	PCS
IAC-12 Comercial	1	55,1 a	12,1 a	53,4 a	120,0 a	12,7 a	58,8 a	074,1 a	225,8 a	33,98 a	16,88a
IAC-12 Comercial	2	55,0 a	12,7 a	53,3 a	120,0 a	12,6 a	55,9 a	074,1 a	225,5 a	33,98 a	16,89 a
IAC-12 Comercial	3	54,8 a	12,8 a	53,5 a	120,0 a	12,8 a	56,2 a	073,9a	225,5 a	34,01 a	16,90 a
IAC-12 Comercial	4	55,1 a	12,9 a	53,4 a	120,0 a	12,9 a	56,1 a	074,0 a	225,6 a	33,99 a	16,89 a
Média		55,0 A	12,8 A	53,4 A	120,0 A	12,8 A	56,0 A	074,0 C	225,6 AB	33,99 A	16,89 A
IAC-12 TP	1	54,4 a	11,5 a	34,6 a	120,0 a	12,6 a	37,5 a	135,8 ab	289,3 a	41,68 a	14,85 a
IAC-12 TP	2	53,5 a	12,2 a	33,5 a	120,0 a	12,9 a	37,8 a	147,3 a	303,8 a	45,67 a	15,28 a
IAC-12 TP	3	53,9 a	10,8 a	39,9 a	120,0 a	12,4 a	48,3 a	077,4 b	156,3 a	24,75 a	15,70 a
IAC-12 TP	4	53,0 a	11,4 a	41,0 a	120,0 a	12,5 a	47,6 a	112,4 ab	225,0 a	32,73 a	14,12 a
Média		53,9 B	11,5 B	36,0 B	120,0 A	12,6 A	41,2 B	120,2 A	249,8 A	37,37 A	15,28 B
IAC-12 TN	1	53,1 a	10,0a	26,3 a	120,0 a	10,2 a	27,8 a	095,1 a	197,9a	32,89 a	15,87 a
IAC-12 TN	2	52,9 a	10,0 a	26,6 a	120,0 a	10,2 a	27,7 a	095,1 a	197,9 a	32,90 a	15,86 a
IAC-12 TN	3	52,8 a	10,1 a	26,3 a	120,0 a	10,8 a	27,4 a	095,1 a	197,7 a	32,89 a	15,89 a
IAC-12 TN	4	52,8 a	10,3 a	26,0 a	120,0 a	10,8 a	27,5 a	095,5 a	197,7 a	32,88 a	15,90 a
Média		52,9 C	10,1 C	26,3 C	120,0 A	10,5 B	27,6 C	095,2 B	197,8 B	32,89 A	15,88 B

^{1/} Na coluna, as médias gerais, com as mesmas letras maiúsculas, e das linhas dentro de cada tipo de material genético, com as mesmas letras minúsculas, não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

4. CONCLUSÕES

O presente trabalho foi conduzido no “Campus” da Universidade Federal de Viçosa (UFV), situado em Viçosa, Minas Gerais, com a semeadura realizada na Estação Experimental “Diogo Alves de Melo”, onde foram avaliadas 10 características agronômicas das variedades comerciais estudadas (FT-Cristalina RCH, Doko e IAC-12) e das respectivas linhagens triplo-positivas (presença das três lipoxigenases nas sementes) e triplo-nulas (ausência das três lipoxigenases nas sementes).

Os resultados obtidos foram os seguintes:

- A variedade FT-Cristalina apresentou maiores valores das características agronômicas na primeira época de semeadura, enquanto as variedades Doko RC e IAC-12 o fizeram na segunda época de semeadura.
- As linhagens triplo-nulas obtiveram os maiores valores nas características agronômicas de produção do que as linhagens triplo-positivas e as linhagens da variedade comercial.

Capítulo 2

EFEITO DA ELIMINAÇÃO GENÉTICA DAS LIPOXIGENASES SOBRE A QUALIDADE FISIOLÓGICA E SANITÁRIA DAS SEMENTES DE SOJA

1. INTRODUÇÃO

A cultura da soja, nos últimos anos, vem crescendo em vários países, inclusive no Brasil, com maior intensidade nas regiões de climas tropical e subtropical. Essa expansão se deve, principalmente, à produção de variedades melhoradas e adaptadas ao cultivo, às condições favoráveis à semeadura, ao seu potencial como matéria -prima para diversos produtos e à disponibilidade de sementes de boa qualidade fisiológica.

Quando a semente atinge a maturidade fisiológica, normalmente se inicia a perda de qualidade por processos de deterioração, levando à redução de seu vigor (SEDIYAMA et al., 1981a).

A deterioração da semente, que é um processo de perda de vigor, envolve alterações citológicas e físicas, que eventualmente causam a morte das sementes (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

Sementes oleaginosas contêm grande quantidade de ácidos graxos polinsaturados, sendo suscetíveis à deterioração mais rapidamente. Em condições de estresse hídrico, os lipídios estão sujeitos ao ataque direto, autocatalítico, por oxigênio atmosférico. Em altos níveis de umidade, a atividade de lipoxigenase favorece o mecanismo alternativo para o ataque dos lipídios pelo oxigênio (VICK e ZIMMERMAN, 1976).

Para melhorar as características organolépticas dos produtos protéicos derivados da soja, fator decisivo na sua aceitação por número maior de consumidores, pesquisadores estão removendo geneticamente as lipoxigenases das sementes, por meio de retrocruzamentos, produzindo

linhagens altamente promissoras quanto a melhoria do sabor, qualidade industrial e produtividade de grãos.

Com a retirada das lipoxigenases das sementes, há a possibilidade de alteração da qualidade fisiológica destas, sendo, portanto, necessário verificar o comportamento dessas sementes desprovidas das lipoxigenases (SEDIYAMA et al., 1999).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade fisiológica de sementes de linhagens oriundas do Programa de Melhoramento da Qualidade e do Sabor da Soja da Universidade Federal de Viçosa, que possuem sementes ausentes das três lipoxigenases, em três épocas de semeadura, em Viçosa, MG.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no “Campus” da Universidade Federal de Viçosa (UFV), situado em Viçosa, Minas Gerais, no período de março de 1998 a setembro de 1999, com semeadura realizada na Estação Experimental Diogo Alves de Melo. As análises das sementes foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) e no Laboratório de Sementes do Departamento de Fitotecnia da UFV.

As variedades de soja estudadas foram FT-Cristalina RCH, Doko-RC e IAC-12, com as respectivas linhagens triplo-nulas, portadoras dos três pares de genes homozigotos recessivos (designadas FT-Cristalina RCH TN, Doko-RC TN e IAC-12 TN) e as linhagens triplo-positivas, portadoras dos genes homozigotos dominantes (designadas FT-Cristalina RCH TP, Doko-RC TP e IAC-12 TP).

A seleção das sementes triplo-nulas e triplo-positivas foi realizada por meio de testes colorimétricos (SUDA et al., 1995) e determinação da atividade das lipoxigenases (OLIVEIRA et al., 1998), para confirmação dos genótipos. Os tratamentos foram, portanto, designados FT-Cristalina RCH Comercial, FT-Cristalina RCH Triplo-Nula ($lx_1lx_1lx_2lx_2lx_3lx_3$) e FT-

Cristalina RCH Triplo-Positiva ($Lx_1Lx_1Lx_2Lx_2Lx_3Lx_3$), com denominação análoga para Doko-RC e IAC-12.

As sementes selecionadas foram semeadas, em casa de vegetação, nos meses de maio a junho de 1998, sendo a colheita das sementes realizada manualmente, nos meses de setembro e outubro desse mesmo ano, as quais foram identificadas em variedade e respectivas linhagens com ou sem lipoxigenases, para posterior semeadura no campo. Essa semeadura foi realizada em três épocas (27 de outubro, 18 de novembro e 14 de dezembro de 1998), em terreno preparado com arações e gradagens, tendo sido aplicado o herbicida Boral, em pré-semeadura, na dosagem de 1 L/ha. Foram utilizados 400 kg/ha de adubo 4-14-8, no sulco de semeadura. Em cada época, plantaram-se 10 linhas de FT-Cristalina RCH Comercial, 10 linhas de FT-Cristalina RCH TP e 10 linhas de FT-Cristalina RCH TN. Com relação à Doko-RC, foram plantadas oito e, à IAC-12, quatro linhas de cada material.

As parcelas foram de 2,5 m de comprimento, espaçadas 0,70 m uma da outra, onde eram aproveitadas as 10 plantas centrais da fileira, descartando-se as plantas das bordaduras. Elas receberam três capinas manuais, irrigação quando necessário e controle de percevejo, por meio de duas aplicações de 30 mL de endossulfam e 6 mL de espalhante adesivo, em 20 litros de água do volume do pulverizador costal.

As plantas foram colhidas manualmente, no período de abril a julho de 1999, quando as parcelas atingiram o estágio de maturação R_8 (FEHR et al., 1978). Foram secadas, em condições naturais, até as sementes apresentarem grau de umidade de 10 a 11% (base úmida), sendo as vagens contadas e debulhadas manualmente e armazenadas em câmara fria à temperatura de 4°C com umidade relativa de 50%, para aguardar as análises das sementes, de julho a setembro daquele mesmo ano.

Na avaliação da qualidade das sementes, foram analisadas as sementes de quatro linhas de cada material genético de cada variedade. No caso das variedades FT-Cristalina RCH e Doko-RC, foram

selecionadas as linhas de maior produtividade, enquanto na IAC-12 foram utilizadas todas as quatro linhas disponíveis. Os testes realizados foram os seguintes:

2.1. Teste-padrão de germinação

Foram utilizadas quatro subamostras de 50 sementes, para cada variedade ou linhagem com ou sem lipoxigenases nas sementes. As sementes foram colocadas sobre duas folhas de papel-toalha e cobertas com uma terceira folha, todas previamente umedecidas com água deionizada, à razão de 2,5 vezes o peso do papel-toalha. Em seguida, foram confeccionados rolos contendo as amostras, que foram colocados em um germinador regulado para a temperatura de 25°C. As contagens das plântulas foram realizadas aos cinco e oito dias após a instalação do teste, sendo as avaliações efetuadas de acordo com os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais de cada amostra.

2.2. Teste de envelhecimento acelerado

De cada variedade e respectivas linhagens com ou sem lipoxigenases nas sementes, foram colocadas 200 sementes sobre tela, adaptada em caixa “gerbox”(11 x 11 x 3,5 cm) contendo, no fundo, 40 mL de água deionizada.

2.3. Emergência e vigor de plântulas

Este teste foi realizado em casa de vegetação, em bandejas plásticas (27 x 32 x 6 cm) contendo areia previamente lavada e

esterilizada com brometo de metila, nas quais foram semeadas cinco subamostras de 40 sementes por tratamento, em cinco sulcos por bandeja. Foram realizadas irrigações quando necessário, no período da manhã e da tarde.

As avaliações e contagens de plântulas normais foram feitas no décimo primeiro dia, quando a porcentagem de emergência se tornou constante. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais, de acordo com os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992), classificando-se as plântulas quanto ao vigor: quando os cotilédones estavam totalmente abertos, a nota visual variou de 1 a 5, sendo a nota 1 para baixo vigor e a nota 5 para alto vigor.

Duas folhas de papel-toalha “Germitest” foram fixadas na parte inferior da tampa de cada caixa “gerbox”, para absorverem possível condensação de água. Em seguida, as caixas foram fechadas e lacradas com fita crepe, para evitar perda ou troca de umidade, mantendo-se 100% de umidade relativa no seu interior. As caixas foram transferidas para uma estufa incubadora, onde ficaram por 48 horas a 41 °C e 100% de umidade relativa, conforme KRZYZANOWSKI et al. (1991).

Após esse período, as sementes foram distribuídas em quatro subamostras de 50 sementes, colocadas para germinar nas condições do teste-padrão de germinação. As avaliações foram realizadas no quinto dia após o início do teste, sendo os resultados expressos em % de plântulas normais obtidas.

2.4. Teste de sanidade das sementes

Utilizou-se o método de papel-filtro (“blotter test”) em caixas “gerbox”, previamente lavadas com detergente e desinfetadas com hipoclorito de sódio 2% (Q -boa 20%) (HENNING, 1994). Em cada caixa foram colocadas seis folhas de papel-filtro autoclavadas, embebidas em solução de água desmineralizada e tratadas com estreptomicina a 100 mg/L, sobre as quais, em condições assépticas, foram colocadas 25 sementes. Cada repetição foi constituída de duas caixas, num total de oito caixas “gerbox”, perfazendo 200 sementes por tratamento. As sementes utilizadas foram pré-tratadas com álcool 70% e com hipoclorito de sódio 2% (40% de água sanitária + 60% de água destilada), durante um minuto cada, sendo, em seguida, lavadas com água desmineralizada e distribuídas, de maneira eqüidistante, nas caixas “gerbox”.

As sementes foram incubadas em condição de laboratório com temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, luminosidade natural e umidade relativa de 70%, durante sete dias, segundo critérios adotados por HENNING (1987). Após o crescimento e a esporulação dos patógenos, fez-se a identificação e determinou-se a percentagem de sementes infectadas por *Phomopsis* spp., *Fusarium* spp., *Cercospora kikuchii* e outros fungos. A identificação dos fungos foi feita por plaqueamento, os quais foram incubados em recinto com temperatura ambiente de 25°C por oito dias. Após o crescimento e a esporulação dos fungos internos sobre as sementes, realizou-se a identificação destes ao microscópio estereoscópio (BARNETT e HUNTER, 1972), cujos resultados obtidos foram expressos em percentagem de sementes infectadas.

2.5. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com tratamentos em fatorial 3 x 3 x 3 [três variedades, três épocas de semeadura e três tipos de materiais genéticos (variedades comercial, linhagens com a presença ou com a ausência das três lipoxigenases)]. Foram utilizadas quatro repetições dos testes-padrão de germinação, de envelhecimento acelerado e de sanidade de sementes, bem como cinco repetições do teste de emergência e vigor de plântulas.

Os dados foram convertidos para arc sen $\sqrt{x/100}$.

O modelo estatístico, das três épocas de semeadura das variedades, foi o seguinte:

$$Y_{ijk} = \mu + t_i + l/t_{j(i)} + \epsilon_{ijk}$$

em que

Y_{ijk} = valor observado na k-ésima planta, na j-ésima repetição, do i-ésimo tratamento;

μ = média geral;

t_i = efeito do i-ésimo tratamento: $t_i \sim \text{NID}(0, \sigma_G^2)$, com $i = 1, \dots, n$, com $n = 3$;

$l/t_{j(i)}$ = efeito da j-ésima linha dentro do i-ésimo tratamento: $l/t_{j(i)} \sim \text{NID}(0, \sigma_w^2)$; e

ϵ_{ijk} = efeito da k-ésima planta, na j-ésima linha, do i-ésimo tratamento: $\epsilon_{ijk} \sim \text{NID}(0, \sigma_e^2)$, com $k = 1, 2, 3, \dots, p$, sendo $p = 4$, para Cristalina, Doko-RC e IAC-12.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resumos das análises de variância encontram-se nos Quadros 1 e 2. Houve efeito significativo de variedades, do tipo de material genético (variedades comercial e linhagens com ou sem lipoxigenases), da época de semeadura e das interações entre essas três fontes de variação sobre praticamente todas as variáveis analisadas. Esse fato é indicativo de que cada variedade produz sementes de qualidades fisiológicas diferenciadas, e a eliminação genética ou não das lipoxigenases causa distintos efeitos sobre as sementes, conforme a época de semeadura adotada. A análise foi feita avaliando as três fontes de variação com fatorial. Com isso, fixou a variedade e alterou as demais fontes, que eram a época de semeadura e o material genético.

Nos Quadros 3, 4 e 5, em que são apresentadas as médias das avaliações, demonstra-se essa variação entre os tratamentos.

Quadro 1 - Resumo da análise de variância dos dados de percentagem de germinação, nos testes de germinação e de envelhecimento acelerado, e de percentagem de sementes infectadas no teste de sanidade das sementes

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio		
		TPG	Envelhecimento Acelerado	Teste de Sanidade
Variedades	2	416,59*	11.343,00**	1.895,08**
Época de semeadura	2	26,50	138,93**	433,22**
Material genético	2	3.677,95**	10.163,67**	221,19**
Var x MG	4	252,65**	314,99**	98,98*
Var x Ep	4	420,35**	937,87**	405,25**
Ep x MG	4	35,67**	152,99**	227,17**
Var x MG x Ep	8	52,58**	231,48**	223,79**
Resíduo	89	10,01	7,67	11,97
Média geral		71,71	63,24	17,80
C.V. (%)		4,41	4,38	19,44

* e ** F Significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

Quadro 2 - Resumo da análise de variância da % de emergência e do vigor de plântulas

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio	
		Teste de Emergência em Leito de Areia	
		% Emergência	Vigor de Plântula
Variedades	2	4.219,17**	0,64**
Época de semeadura	2	1.373,91**	0,56**
Material genético	2	4,15	1,02**
Var x MG	4	491,91**	1,22**
Var x Ep	4	442,18**	0,58**
Ép x MG	4	184,15*	0,59**
Var x MG x Ep	8	246,27**	0,42**
Resíduo	116	8,21	0,00
Média geral		72,92	4,71

CV (%)

3,93

3,62

* e ** F Significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

Quadro 3 - Médias estimadas de plântulas normais pelos testes-padrão de germinação (TPG), emergência e vigor de plântulas (EVP), vigor pelo teste de envelhecimento acelerado (TEA) e percentagem de sementes infectadas, pelo teste de sanidade, das sementes da variedade comercial de soja FT-Cristalina RCH e de suas linhagens com (triplo-positivas-TP) ou sem as três lipoxigenases (triplo-nulas-TN) nas sementes. Viçosa, MG, 2000^{1/}

Época de Semeadura	Material Genético	TPG	EVP	TEA	EVP (Nota)	Sementes Infectadas
		%				%
27/10/98	FT-Cristalina RCH Comercial	73,21 Ab	77,59 Bab	70,56 Ab	4,67 Bb	31,96 Ba
27/10/98	FT-Cristalina RCH TP	66,71 Aa	77,35 Ba	59,69 Bb	4,83 Aa	51,50 Aa
27/10/98	FT-Cristalina RCH TN	57,49 Ba	84,79 Aa	38,24 Ca	4,83 Ab	23,38 Ca
	Média	65,80	79,91	56,16	4,78	35,61
18/11/98	FT-Cristalina RCH Comercial	79,84 Aab	81,44 Aa	75,92 Aab	4,83 Aa	14,43 Bc
18/11/98	FT-Cristalina RCH TP	66,62 Ba	81,30 Aa	55,87 Bb	4,67 Bb	25,39 Ab
18/11/98	FT-Cristalina RCH TN	60,25 Ba	86,10 Aa	44,04 Ca	4,83 Ab	22,08 Aa
	Média	68,90	82,95	58,61	4,78	20,63
14/12/98	FT-Cristalina RCH Comercial	82,65 Aa	72,60 Bb	78,70 Aa	4,67 Bb	22,05 Ab
14/12/98	FT-Cristalina RCH TP	72,91 Ba	64,62 Cb	68,45 Ba	4,50 Cc	19,02 Ab
14/12/98	FT-Cristalina RCH TN	58,90 Ca	82,77 Aa	40,08 Ca	5,00 Aa	25,62 Aa
	Média	71,49	73,33	62,41	4,72	22,23
	Média Geral	68,73	78,73	59,06	4,76	26,16

1/ Nas colunas, médias das variedades seguidas das mesmas letras maiúsculas dentro da mesma época de semeadura ou seguidas das mesmas letras minúsculas dentro do mesmo material genético não diferem, significativamente, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quadro 4 - Médias estimadas de germinação pelos testes-padrão de germinação (TPG), emergência e vigor de plântulas (EVP), vigor pelo teste de envelhecimento acelerado (TEA) e percentagem de sementes infectadas, pelo teste de sanidade, das sementes da variedade comercial de soja Doko-RC e de suas linhagens com (triplo-positivas-TP) ou sem as três lipoxigenases (triplo-nulas-TN) nas sementes. Viçosa, MG, 2000^{1/}

Época de Semeadura	Material Genético	TPG	EVP	TEA	EVP (Nota)	Sementes Infectadas
		%				%
27/10/98	Doko-RC Comercial	81,57 Aa	73,42 Bb	79,44 Aa	5,00 Aa	18,93 Aa
27/10/98	Doko-RC TP	79,49 Aa	77,83 Bb	76,98 Aa	5,00 Aa	11,24 Bb
27/10/98	Doko-RC TN	56,03 Ba	86,96 Aa	39,12 Ba	5,00 Aa	12,52 Ba
	Média	72,36	79,40	65,18	5,00	14,23
18/11/98	Doko-RC Comercial	86,14 Aa	87,32 Aa	83,67 Aa	4,67 Bc	4,06 Ab
18/11/98	Doko-RC TP	84,00 Aa	87,32 Aa	80,06 Aa	4,67 Bb	8,31 Bb
18/11/98	Doko-RC TN	56,03 Aa	86,97 Aa	39,12 Ba	5,00 Aa	12,52 Aa
	Média	75,39	87,20	67,62	4,78	8,30
14/12/98	Doko-RC Comercial	72,94 Ab	67,40 Bc	64,96 Ab	4,83 Bb	16,26 Ba
14/12/98	Doko-RC TP	67,51 Ab	77,57 Ab	41,84 Bb	5,00 Aa	27,72 Aa
14/12/98	Doko-RC TN	55,24 Ba	59,74 Cb	38,45 Ba	4,00 Cb	15,30 Ba
	Média	65,23	68,24	48,42	4,61	19,76
	Média Geral	70,99	78,28	60,41	4,80	14,10

^{1/} Nas colunas, médias das variedades seguidas das mesmas letras maiúsculas dentro da mesma época de semeadura ou seguidas das mesmas letras minúsculas dentro do mesmo material genético não diferem, significativamente, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quadro 5 - Médias estimadas de germinação pelos testes-padrão de germinação (TPG), emergência e vigor de plântulas (EVP), vigor pelo teste de envelhecimento acelerado (TEA) e percentagem de sementes infectadas, pelo teste de sanidade, das sementes da variedade comercial de soja IAC-12 e de suas linhagens com (triplo-positivas-TP) ou sem as três lipoxigenases (triplo-nulas-TN) nas sementes. Viçosa, MG, 2000^{1/}

Época de Semeadura	Material Genético	TPG	EVP	TEA	EVP (Nota)	Sementes Infectadas
		%				
27/10/98	IAC-12 Comercial	83,33 Aa	61,39 Ab	80,31 Aa	4,67 Bb	18,70 Aa
27/10/98	IAC-12 TP	84,69 Aa	52,94 Bc	84,00 Aa	4,83 Ab	8,65 Bb
27/10/98	IAC-12 TN	71,08 Ba	51,29 Bb	60,08 Ba	3,67 Cb	7,54 Bb
	Média	79,70	55,21	74,80	4,39	11,63
18/11/98	IAC-12 Comercial	71,66 Bb	61,47 Bb	70,25 Bb	4,83 Ba	6,83 Bb
18/11/98	IAC-12 TP	78,48 Ab	75,98 Aa	77,94 Ab	5,00 Aa	16,03 Aa
18/11/98	IAC-12 TN	55,24 Cb	63,19 Ba	38,44 Cb	4,83 Ba	15,30 Aa
	Média	68,46	66,88	62,21	4,89	12,72
14/12/98	IAC-12 Comercial	78,40 Aa	74,96 Aa	79,63 Aa	4,83 Aa	20,55 Aa
14/12/98	IAC-12 TP	84,80 Aa	63,15 Bb	81,50 Aab	4,83 Ab	17,15 Aa
14/12/98	IAC-12 TN	71,08 Ba	51,29 Cb	60,08 Ba	3,67 Bb	7,54 Bb
	Média	78,09	63,13	73,74	4,44	15,08
	Média Geral	75,42	61,74	70,25	4,57	13,14

^{1/} Nas colunas, médias das variedades seguidas das mesmas letras maiúsculas dentro da mesma época de semeadura ou seguidas das mesmas letras minúsculas dentro do mesmo material genético não diferem, significativamente, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.1. Germinação e vigor das sementes

Analisando as três variedades FT-Cristalina RCH, Doko e IAC-12 e respectivas linhagens, com ou sem lipoxigenases nas sementes, observou-se que houve alternância das variedades FT-Cristalina RCH e IAC-12 na apresentação das maiores estimativas de médias de germinação e vigor, enquanto Doko-RC apresentou valores intermediários nos diferentes testes aplicados.

Como houve efeito significativo da interação tripla (Quadro 1), quando se fixou a época de semeadura, estudando as três épocas de semeadura, houve efeito significativo também dos três materiais genéticos, sendo os maiores valores nas variedades comerciais; também, esses materiais foram significativamente superiores às linhagens triplo -positivas e às linhagens triplo -nulas. As linhagens triplo-nulas apresentaram as menores médias.

Como ocorreu interação tripla, fixou-se a variedade e, depois, o material genético. A variedade FT-Cristalina RCH produziu melhores sementes nas últimas épocas, Doko-RC na segunda época e IAC-12 na primeira e última épocas de semeadura. Por último, fixando a variedade e a época de semeadura, as linhagens comerciais da variedade FT-Cristalina RCH foram significativamente superiores às linhagens triplo -positivas, tendo os menores desempenhos as linhagens triplo-nulas.

Esses resultados divergem dos de QUEIROZ (2000), que, trabalhando com retardamento de colheita com as mesmas três variedades, obteve baixos valores de germinação a variedade IAC-12 na segunda época de semeadura.

A análise do efeito da ausência de lipoxigenases nas sementes, objetivo principal deste trabalho, indicou que, no caso da variedade FT-Cristalina RCH, observa-se o baixo desempenho das sementes sem lipoxigenases, isto é, dos materiais TN. Em todas as avaliações de germinação e vigor, essas linhagens mostraram-se inferiores ao material TP, principalmente as

linhagens comerciais. Tais resultados indicam que a eliminação não foi benéfica com relação à qualidade fisiológica das sementes (Quadro 3).

À semelhança do ocorrido com a variedade FT-Cristalina, na variedade Doko-RC (Quadro 4) também se verificou baixo desempenho da linhagem triplo-nula. Pela comparação das médias de germinação e vigor obtidas com as variedades comerciais e com as linhagens TN, verificou-se que a retirada das lipoxigenases nessa variedade causou diminuição nas qualidades fisiológica e sanitária das sementes. De modo geral, as sementes da segunda época de semeadura se mostraram de melhor qualidade, provavelmente pela coincidência de condições meteorológicas favoráveis na época de maturação e colheita das sementes relativas a essa variedade (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

A qualidade da semente depende, dentre outros fatores, das condições climáticas, por ocasião da maturação e da colheita, como temperatura, umidade relativa e precipitação pluviométrica. Os períodos de maturação seco e frio propiciam a colheita de sementes de boa qualidade. De acordo com PEREIRA (1979), as semeaduras no mês de outubro proporcionam sementes de qualidade inferior na colheita em relação às efetuadas em novembro e dezembro. As temperaturas elevadas, associadas ao excesso de chuva durante o período de maturação, causam danos severos à qualidade da semente (MARCOS FILHO, 1986).

BHERING et al. (1991), ao estudarem a qualidade das sementes dos cultivares Doko e Cristalina e de 10 linhagens de soja desenvolvidas pela UFV, concluíram que o melhor período para semeadura da soja, visando à produção de grãos com boa qualidade, foi compreendido entre final de novembro e início de dezembro. As variedades estudadas por URBEN FILHO et al. (1987) não foram afetadas pela época de plantio, sendo a época mais favorável à maioria dos genótipos, incluindo as variedades Doko e Cristalina, a primeira quinzena de novembro.

No caso da variedade IAC-12 (Quadro 5), a comparação entre os tipos de materiais genéticos (variedade comercial, ou linhagens com ou

sem lipoxigenases nas sementes) indica variação da ordem de suas médias, nos diferentes testes e épocas de semeadura. Entretanto, verifica-se, nesse quadro, que, à semelhança das variedades FT-Cristalina RCH e Doko-RC, houve indicativo de inferioridade das sementes TN com relação ao potencial de germinação e vigor, principalmente quando se comparam os resultados desse material com as sementes triplo-positivas (TP).

Esses resultados concordam com os de QUEIROZ (1993) e OLIVEIRA (1996), que trabalharam com linhagens derivadas da variedade FT-Cristalina (CR1, CR2, CR3, CR1,3 e CR2,3; isso significa que a variedade cristalina não possui essa lipoxigenase nas suas sementes), pois esse autores observaram que não há relação com a retirada das lipoxigenases nas sementes com qualidade fisiológica das sementes. Concordam também com os de DIAS (1999), que trabalhou com as variedades CAC-1 e Doko-RC triplo-nulas, medindo a atividade das lipoxigenases 1, 2 e 3, durante a germinação, na qualidade fisiológica das sementes. Ela, também, observou não existir associação entre ausência ou presença de lipoxigenases na qualidade fisiológica das sementes de soja.

TAKETA (2000), estudando linhagens triplo-nulas do Programa de Melhoramento de Soja para Consumo Humano da UFV, obteve resultados que evidenciam que há linhagens TN com desempenho produtivo equivalente ao das variedades comerciais e com boa qualidade fisiológica de sementes.

3.2. Teste de envelhecimento acelerado

O comportamento das sementes das variedades no teste de envelhecimento acelerado foi semelhante ao apresentado no teste-padrão de germinação, em que os melhores desempenhos foram das variedades IAC-12, Doko-RC e FT-Cristalina RCH (Quadros 3, 4 e 5). Este teste é utilizado para avaliar o vigor das sementes quando submetidas às

condições de estresse de alta temperatura e umidade, sendo indicado para estimar o comportamento das sementes no armazenamento.

As sementes da variedade FT-Cristalina RCH (Quadro 3) apresentaram maior vigor na terceira época de semeadura, quando a colheita foi realizada numa época de baixa temperatura e umidade relativa, que favorecem a obtenção de sementes de boa qualidade. Avaliando cada linhagem dentro de cada época de semeadura e, depois, cada época dentro de cada linhagem de cada variedade, observou-se que as sementes da linhagem da variedade comercial têm ligeira superioridade em relação às das triplo-positivas; no entanto, as triplo-nulas apresentaram a mais baixa qualidade fisiológica. QUEIROZ (1993), estudando linhagens com ausência de lipoxigenases, encontrou maior vigor naquelas com ausência das lipoxigenases 3 (CR3, CR1,3 e CR2,3). TAKETA (2000), trabalhando com várias linhagens triplo-nulas, obteve resultados semelhantes aos das variedades comerciais Doko e FT-Cristalina, com relação à qualidade fisiológica das sementes.

Analisando a variedade Doko RC (Quadro 4), verificou-se que o maior vigor foi obtido nas sementes produzidas na segunda época de semeadura, ou seja, o início da colheita coincidiu com o período de baixas temperaturas do outono (abril e maio). As sementes obtidas da terceira época de semeadura apresentaram pior qualidade, pois a colheita foi realizada logo após um período de chuva.

As sementes da variedade IAC-12 tiveram o melhor desempenho (Quadro 5). Observou-se ligeira diferença entre a primeira e a terceira época de semeadura quando a colheita foi realizada com temperatura amena e baixa umidade relativa.

Para COSTA et al. (1994), o fator temperatura apresenta maior influência na determinação da qualidade da semente. Estes autores afirmaram que sementes com qualidades fisiológica e sanitária superiores foram obtidas em locais onde as temperaturas são amenas, menores que 22°C, durante a fase de maturação das sementes de soja.

3.3. Emergência e vigor de plântulas

Analisando os Quadro 3, 4 e 5, verifica-se que o melhor desempenho na emergência e vigor de plântulas, tanto na % de emergência quanto no vigor das plântulas, foi das sementes das variedades Doko RC, em seguida a variedade FT-Cristalina RCH, sendo os menores valores obtidos para a variedade IAC-12.

Avaliando cada variedade separadamente, iniciando-se com a FT-Cristalina RCH (Quadro 3) - como ocorreu a interação entre variedade, material genético e época de semeadura (Quadro 2) - e fixando a época de semeadura, verificou-se o melhor desempenho das sementes na segunda época de semeadura, cujos valores intermediários foram observados nas sementes da primeira semeadura. Os mais baixos valores do teste de emergência ocorreram na terceira época de semeadura. Verificando as linhagens dentro de cada época de semeadura e cada época dentro de cada linhagem, observou-se que as linhagens triplo-nulas tiveram melhor desempenho do que as da variedade comercial, bem como menor desempenho das sementes das linhagens triplo-positivas.

Na variedade Doko RC (Quadro 4), as sementes foram significativamente superiores na emergência das plântulas da segunda época de semeadura, quando a colheita foi realizada no início das baixas temperaturas. Os valores intermediários ocorreram na primeira época de semeadura e os menores, na terceira.

Verificou-se o melhor desempenho da linhagem triplo-positiva presente na segunda e terceira épocas de semeadura; na primeira época, o melhor desempenho foi obtido nas sementes da linhagem triplo-nula.

Com a variedade IAC-12 (Quadro 5), o melhor desempenho das três linhagens no teste de emergência ocorreu na segunda época de semeadura, sendo o pior na primeira época de semeadura. As linhagens

da variedade comercial foram superiores na primeira e terceira épocas de semeadura; na segunda época, foi a vez da linhagem positiva.

Os resultados do teste de emergência e vigor de plântulas foram significativamente superiores aos obtidos nos demais testes, principalmente em relação aos de germinação das sementes das variedades FT-Cristalina RCH e Doko RC, fato esse também relatado por QUEIROZ (1993). COSTA (1986) comentou que, pelo fato de o teste de emergência de plântulas ser conduzido em leito de areia, as plântulas teriam maior possibilidade de sobrevivência, pois após a emergência, os tegumentos contaminados por fungos permaneceriam na areia e não teriam contato com os cotilédones, como ocorre em rolo de papel, evitando o seu apodrecimento. De acordo com FRANÇA NETO e HENNING (1984), as sementes contaminadas com *Phomopsis* spp., quando germinam em leito de areia com a emergência dos cotilédones para fora do solo, deixam a casca da semente no solo contaminado com o patógeno, enquanto no teste de germinação com rolo de papel ele fica em contato com os cotilédones, trazendo baixa germinação em laboratório do que no leito de areia.

Quando ocorrem grandes variações ambientais, principalmente chuvas aliadas a altas temperaturas, durante a permanência das plantas no campo, logo após a maturação fisiológica a qualidade fisiológica das sementes é comprometida por sucessivas retrações e intumescimentos dos tecidos das sementes, agravando-se a situação com o retardamento da colheita quando as sementes estão sujeitas às chuvas temporárias, que alteram o teor de umidade destas (FRANÇA NETO e KRZYZANOWSKI, 1990; BRACCINI et al., 1993).

3.4. Sanidade das sementes

O teste de sanidade das sementes indicou que os fungos mais prevalentes nas amostras analisadas foram *Phomopsis* sp. e *Aspergillus* sp., com pouca incidência de *Fusarium* sp. e de bactérias.

Analisando os resultados, observa-se, pelas médias das porcentagens de sementes infectadas por fungos e, ou, bactérias, que a variedade FT-Cristalina RCH e suas linhagens com ou sem lipoxigenases nas sementes apresentaram maior infecção que as variedades Doko-RC e IAC-12 e linhagens delas derivadas (Quadros 3, 4 e 5).

Observou-se que as sementes da variedade FT-Cristalina RCH e suas linhagens TN e TP apresentaram maiores graus de infecção na primeira época de semeadura. Essa época caracterizou-se como período de maior temperatura e frequência de chuvas, o que afetou a qualidade sanitária das sementes. As variedades ou linhagens de ciclo tardio apresentaram maior porcentagem de germinação quando comparadas com variedades ou linhagens de ciclo precoce. Também, quanto à incidência de fungos, observou-se menor ocorrência nas linhagens ou variedades de ciclo tardio (Doko-RC), sendo contrário na variedade FT-Cristalina RCH. Em ambientes com temperaturas mais amenas, a altitude mais elevada e a quantidade de chuva mais adequada e bem distribuída favorecem a colheita de sementes de boa qualidade fisiológica (AZEVEDO, 1998).

Analisando a influência da retirada de lipoxigenases das sementes, no caso da variedade FT-Cristalina RCH (Quadro 3), verificou-se que a linhagem triplo-positiva apresentou maior % de infecção que as dos demais materiais. Resultado semelhante pôde ser observado na Doko-RC (Quadro 4), enquanto na IAC-12 o material TP (Quadro 5) apresentou infecção em suas sementes igual ou superior às das variedades comerciais ou à do material TN.

Esses resultados indicam que, com a retirada das lipoxigenases, não há efeito deletério sobre a resistência das sementes à infecção por fungos ou bactérias das sementes.

No geral, os níveis de infecção estão mais relacionados com o ambiente durante a formação e maturação das sementes. De acordo com COSTA et al. (2000), a ocorrência de altas temperaturas, juntamente com chuvas frequentes, no período de pós-maturação à pré-colheita das

sementes, é o principal fator que contribui para aumentar a incidência de doenças, provocando a deterioração das sementes. GONÇALVES (1989) verificou que as qualidades fisiológica e sanitária das sementes variam de acordo o genótipo, a época de semeadura, o regime hídrico e o ano agrícola. OLIVEIRA (1996) observou menor infecção das sementes das variedades Doko e FT-Cristalina e da linhagem CR1,3, em relação às demais variedades avaliadas em condições de campo, em Viçosa, MG.

GOULART (1999) observou que a incidência de fungos nas sementes de soja varia de acordo com o local de produção, as condições climáticas durante as fases de maturação e colheita, a resistência varietal e a aplicação ou não de controle químico.

A ocorrência de condições climáticas desfavoráveis como chuvas e altas temperaturas durante as fases de maturação e colheita afeta, além da qualidade fisiológica, a sanidade das sementes (FRANÇA NETO e HENNING, 1984).

As altas temperaturas e elevado teor de umidade, durante as fases de maturação e colheita da semente de soja, podem propiciar aumento da infecção de sementes por fungos, como *Phomopsis* spp. e *Fusarium* spp. Dependendo das condições climáticas, sementes aparentemente sadias podem estar altamente infectadas por tais fungos. Nesse caso, a germinação avaliada pelo teste-padrão pode ser drasticamente reduzida, ao passo que a emergência das plântulas oriundas dessas sementes no teste de solo ou areia não é afetada, se a qualidade fisiológica for boa e as condições forem adequadas para rápida germinação e emergência. Quanto maior o índice de sementes infectadas por *Phomopsis* spp., menor a porcentagem de germinação-padrão, ao passo que a emergência em areia não é afetada pelo fungo. A germinação potencial obtida pelo teste de tetrazólio também não é afetada pela infecção das sementes por fungos (FRANÇA NETO e HENNING, 1984).

A infecção das sementes de soja por *Phomopsis* spp. e *f. semitectum* está condicionada quase que exclusivamente ao tegumento, sendo, em

raríssimas situações, profundas, atingindo os cotilédones ou o eixo embrionário. Isso é devido ao fato de que a infecção das sementes por tais fungos ocorre no final do ciclo de maturação, principalmente após o ponto de maturação fisiológica, resultando, portanto, em infecção superficial, restrita principalmente ao tegumento. Nesse caso, quando as sementes são germinadas em rolo de papel, há constante contato entre o tegumento infectado, os cotilédones e o eixo embrionário, resultando em altos índices de plântulas infectadas e sementes mortas. Entretanto, quando essas mesmas sementes são testadas em solo ou areia, os tegumentos infectados são deixados no substrato durante o processo de emergência, e, desse modo, as plântulas escapam dos efeitos detrimenais causados pelos tegumentos infectados (FRANÇA NETO e HENNING, 1984).

4. CONCLUSÕES

O presente trabalho foi conduzido nas condições do Laboratório de Sementes do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de soja. As variedades comerciais estudadas foram FT-Cristalina RCH, Doko RC e IAC-12 e respectivas linhagens triplo-positivas (presença das três lipoxigenases nas sementes) e triplo-nulas (ausência das três lipoxigenases nas sementes).

Foram obtidos os seguintes resultados:

- Todas as variedades e respectivas linhagens apresentaram boa qualidade fisiológica de sementes.
- A variedade IAC-12, com as respectivas linhagens, foi a que apresentou melhor qualidade fisiológica e sanitária de sementes. A variedade FT-Cristalina RCH foi a de pior qualidade.
- As linhagens comerciais foram significativamente superiores às linhagens positivas, tendo as linhagens triplo-nulas o pior desempenho.
- A melhor época de semeadura depende de cada variedade, sendo a terceira época para a variedade FT-Cristalina RCH, a segunda para a Doko RC e a primeira época de semeadura para a IAC-12.

CAPÍTULO 3

EFEITO DA ELIMINAÇÃO GENÉTICA DE LIPOXIGENASES NAS SEMENTES DE SOJA SOBRE A RESISTÊNCIA AO CANCRO-DA-HASTE, À CERCOSPORIOSE E AO OÍDIO

1. INTRODUÇÃO

A cultura da soja, nos últimos anos, vem crescendo em vários países, inclusive no Brasil, principalmente em regiões de climas tropical e subtropical. Essa expansão se deve, primeiramente, à produção de variedades melhoradas e adaptadas ao cultivo e às condições favoráveis a semeadura, produção e colheita, resistência a doenças e, em especial, ao seu potencial como matéria-prima para diversos produtos.

Cerca de 50 doenças já foram identificadas no Brasil causando problemas na cultura da soja. Na safra de 1999/00, as doenças foram responsáveis por perdas estimadas em US\$1,39 bilhão (YORINORI, 2000). Com a monocultura da soja e a sua semeadura em outras regiões, as doenças são difundidas por todo o País, trazendo, também, a possibilidade de surgirem novas doenças. Assim, doenças tradicionais de menor importância numa região podem atingir proporções epidêmicas, devido às diferentes condições de temperatura e umidade.

A importância de cada doença depende do ano, da região e das condições climáticas em cada safra. Como exemplo, o oídio, que raramente causa danos econômicos, na safra de 1996/97 foi responsável por sérios danos econômicos em várias lavouras de todo o País (YORINORI, 2000).

Para melhorar as características organolépticas dos derivados da soja, por meio do melhoramento genético, o Programa de Melhoramento de Soja da Universidade Federal de Viçosa vem desenvolvendo pesquisa para retirar as lipoxigenases das sementes, que são as principais

responsáveis pelo desenvolvimento do sabor desagradável das sementes das variedades comerciais. Esse programa tem obtido sucesso no desenvolvimento de materiais sem a presença das três lipoxigenases, materiais triplo-nulos, utilizando marcadores moleculares associados às avaliações agronômicas no campo e em casa de vegetação. No entanto, o programa visa, também, selecionar genótipos resistentes a doenças, para que sejam garantidas boas produtividades com as novas variedades.

O objetivo deste trabalho foi verificar se as lipoxigenases das sementes de soja estão relacionadas com a resistência das plantas ao cancro-da-haste, à cercosporiose e ao oídio.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em casa de vegetação e em câmara de nevoeiro do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO), da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, no período de agosto a outubro de 1999.

As variedades de soja estudadas foram FT-Cristalina RCH, Doko-RC e IAC-12, com as respectivas linhagens triplo-nulas, portadoras dos três pares de genes homozigotos recessivos (designadas FT-Cristalina RCH TN, Doko-RC TN e IAC-12 TN); e as linhagens triplo-positivas, portadoras dos genes homozigotos dominantes (designadas FT-Cristalina RCH TP, Doko-RC TP e IAC-12 TP).

A seleção das sementes triplo-nulas e triplo-positivas foi realizada por meio de testes colorimétricos (SUDA et al., 1995) e determinação da atividade das lipoxigenases (OLIVEIRA et al., 1998), para confirmação dos genótipos. Os tratamentos foram, portanto, designados FT-Cristalina RCH Comercial, FT-Cristalina RCH Triplo-Nula ($lx_1lx_1lx_2lx_2lx_3lx_3$) e FT-Cristalina RCH Triplo-Positiva ($Lx_1Lx_1Lx_2Lx_2Lx_3Lx_3$), com denominação análoga para Doko-RC e IAC-12.

As sementes selecionadas foram semeadas, em casa de vegetação, nos meses de maio a junho de 1998, sendo a colheita das sementes realizada manualmente, nos meses de setembro e outubro daquele mesmo ano, e identificadas por variedade e respectivas linhagens, com ou sem lipoxigenases, para posterior semeadura no campo. Esta foi realizada no campo, em três épocas (27 de outubro, 18 de novembro e 14 de dezembro de 1998), em terreno preparado com arações e gradagens, tendo sido aplicado o herbicida Boral, em pré-semeadura, na dosagem de 1 L/ha. Foram utilizados

400 kg/ha de adubo 4-14-8, no sulco de semeadura. Em cada época, foram semeadas 10 linhas de FT-Cristalina RCH Comercial, 10 linhas de FT-Cristalina RCH TP e 10 linhas de FT-Cristalina RCH TN. Com relação à Doko-RC e à IAC-12, foram cultivadas oito e quatro linhas de cada material, respectivamente.

As parcelas foram de 2,5 m de comprimento, espaçadas 0,70 m uma da outra, sendo aproveitadas as 10 plantas centrais da fileira e descartadas as plantas das bordaduras. Elas receberam três capinas manuais, irrigação quando necessário e controle de percevejo, por meio de duas aplicações, na dosagem de 30 ml de endossulfam e 6 mL de espalhante adesivo, em 20 litros de água do volume do pulverizador costal.

As plantas foram colhidas manualmente, no período de abril a julho de 1999, quando as parcelas atingiram o estágio de maturação R_8 (FEHR et al., 1978), as quais foram secadas, em condições naturais, até as sementes apresentarem graus de umidade de 10 a 11% (base úmida), sendo as vagens contadas e debulhadas manualmente e armazenadas em câmara fria à temperatura de 4°C com umidade relativa de 50%, para aguardar as análises das sementes, de julho a setembro de 1999.

Na avaliação da resistência às três doenças (cancro-da-haste, cercosporiose e oídio), foram analisadas as sementes de quatro linhas de cada material genético de cada variedade. No caso das variedades FT-Cristalina RCH e Doko-RC, selecionaram-se as linhas de maior produtividade, enquanto no da IAC-12 foram utilizadas todas as quatro linhas disponíveis. Os testes realizados foram os seguintes:

As sementes dos diferentes materiais genéticos foram semeadas em vasos de 5 L contendo solo adubado (10 dag P de superfosfato simples, 20 dag K de cloreto de potássio e 5 dag de N de sulfato de amônia, em cobertura) como substrato, mantendo-se cinco plantas por vaso, sendo, portanto, inoculadas 30 plantas de cada tratamento. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, cujas temperaturas máximas e mínimas,

durante a condução dos testes, foram, respectivamente, de 35 e 22°C. A emergência das plântulas deu-se quatro dias após a semeadura.

2.1. Teste do cancro-da-haste

O isolado de *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* usado nas inoculações foi o CH08, fornecido pelo Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Embrapa-Soja) e obtido de hastes de soja da variedade Davis, proveniente do Município de Palmeiras, Paraná. Esse isolado foi multiplicado e cedido pelo Programa de Melhoramento de Soja do Departamento de Fitotecnia da UFV.

O método de inoculação utilizado foi o do palito colonizado com o micélio do fungo, de acordo com a técnica descrita por CRALL (1952) e KEELING (1982), modificada por YORINORI (1991).

As inoculações foram feitas pela manhã, no estágio de desenvolvimento V₁ (FEHR et al., 1977), 15 dias após a semeadura, introduzindo-se na haste principal da plântula, 10 mm abaixo das folhas unifoliadas, um palito colonizado pelo fungo. As plântulas inoculadas foram mantidas por um período de 72 horas em câmara de nevoeiro, a 20-22°C, e, em seguida, levadas para a casa de vegetação. As avaliações, realizadas 50 dias após as inoculações, consistiram na observação visual da presença de lesão no ponto de inoculação. Plantas inoculadas que não apresentavam lesões foram consideradas resistentes e aquelas que exibiram lesão e posteriormente morreram, suscetíveis.

2.2. Teste do oídio

A inoculação foi realizada, utilizando-se plantas suscetíveis infectadas por *Microsphaera diffusa* Cke. & Pk. apresentando o fungo nas folhas, colocadas junto com as plantas a serem testadas, com 20 dias da

emergência, para que os inóculos caíssem nas suas folhas e causassem infecção.

Aos 7, 21 e 45 dias após a colocação das plantas infectadas, foi avaliado o seu nível de infecção, estimando-se, visualmente, a área foliar infectada (AFI), por meio da escala descrita por YORINORI (1997). Nessa escala, NI = 0 (sem infecção), NI = 1 (traços a 10% da AFI), NI = 2 (11 a 25% da AFI), NI = 3 (26 a 50% da AFI), NI = 4 (51 a 75% da AFI), e NI = 5 (75 a 100% da AFI). Foi adotado o seguinte critério de classificação de reação: R = resistente (NI = 0 a 2), MR = moderadamente resistente (NI = 2 a 3), S = suscetível (NI = 3 a 4) e AS = altamente suscetível (NI = 4 a 5).

2.3. Teste da cercosporiose

Foi realizada a inoculação artificial de *Cercospora sojina* Hara, utilizando-se inóculo da raça 4, cedido pelo Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, preparado de acordo com a metodologia descrita por VEIGA (1973) e CORDEIRO (1986).

A inoculação do patógeno foi realizada quando as plântulas apresentavam as primeiras folhas trifolioladas completamente desenvolvidas cerca de 20 dias após a emergência. Foram pulverizados cerca de 10 mL de uma suspensão de conídios por planta, nas faces superior e inferior das folhas. A calibração da suspensão foi feita com hemacitômetro, para a concentração de 40.000 conídios por mililitro de solução, de acordo com CASELA et al. (1978). Em seguida, as plantas foram colocadas em câmara úmida, com temperatura entre 20 e 22°C e com 100% de umidade relativa, por 72 horas.

Com base no folíolo mais infectado da planta, 20 dias após a inoculação em casa de vegetação, foram feitas as avaliações visuais da severidade da doença, utilizando-se a escala de notas proposta por ROSS

(1968) para determinar o grau de infecção: 1,0 - sem infecção da doença; 2,0 - presença de traços da doença; 3,0 - lesões de tamanho pequeno; 4,0 - lesões de tamanho médio; e 5,0 - lesões grandes. O esquema apresentado por CORDEIRO (1986) mostrando folíolos com cada grau de infecção, serviu de modelo para as avaliações.

As notas de 1,0 a 3,0 foram consideradas como reação de resistência e as notas 4,0 e 5,0, como reação de suscetibilidade (CASELA et al., 1981).

A análise de variância dos dados foi realizada segundo o delineamento inteiramente casualizado, com tratamentos hierárquicos, considerando-se as seguintes fontes de variação: tipos de materiais genéticos (variedades comerciais e linhagens com ou sem lipoxigenases nas sementes), linhas dentro de materiais genéticos e plantas dentro de linhas dentro de materiais genéticos. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O modelo estatístico para cada doença (cancro da haste, cercosporiose e oídio) foi o seguinte:

$$Y_{ijk} = \mu + t_i + l_{j(i)} + \epsilon_{ijk}$$

em que

Y_{ijk} = valor observado na k-ésima planta, na j-ésima repetição, do i-ésimo tratamento;

μ = média geral;

t_i = efeito do i-ésimo tratamento;

$l_{j(i)}$ = efeito da j-ésima linha dentro do i-ésimo tratamento; e

ϵ_{ijk} = efeito da k-ésima planta, na j-ésima linha, do i-ésimo tratamento: $\epsilon_{ijk} \sim \text{NID}(0, \sigma_e^2)$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resumos das análises de variâncias relativas aos dados de índice de infecção de cancro-da-haste, cercosporiose e oídio estão apresentados no Quadro 1. As médias dos índices de infecção encontram-se no Quadro 2.

3.1. Cancro-da-haste

Não houve interação entre material genético, cultivar e linha de cada material estudado. Em todas as variedades estudadas (FT-Cristalina RCH, Doko-RC e IAC-12) e respectivas linhagens com (TP) ou sem lipoxigenases (TN), verificou-se ausência dos sintomas da incidência do cancro-da-haste nas plântulas em casa de vegetação. Com isso, todos os materiais inoculados apresentaram-se resistentes ao isolado CH 08 do patógeno *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis*.

Quadro 1 - Resumo da análise de variância dos dados de inoculação de plântula em casa de vegetação, para avaliação da resistência ao cancro-da-haste, à cercosporiose e ao oídio

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio		
		Cancro-da-haste	Cercosporiose	Oídio
Variedades	2	0,00	599,33**	73,81**
Material genético	2	0,00	10,70**	5,07**
Mat. Gen. x Variedade	4	0,00	8,92**	2,30*
Linha/Mat. Gen. x Cult.	27	0,00	0,02	0,64
Resíduo	1044	0,00	0,22	0,99
Média geral		1,00	1,81	2,46
C.V. linhas (%)		0,00	7,80	32,51
C.V. plantas (%)		0,00	25,68	40,38

* e ** F Significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

Quadro 2 - Médias estimadas dos índices de infecção obtidos nos testes de resistência ao cancro-da-haste, à cercosporiose e ao oídio das variedades comerciais de soja FT-Cristalina RCH, Doko-RC e IAC-12 e de suas linhagens com (triplo-positivas-TP) ou sem as três lipoxigenases (triplo-nulas-TN) nas sementes. Viçosa, MG, 2000^{1/}

Material Genético	Cancro-da-Haste	Cercosporiose	Oídio
FT-Cristalina RCH Comercial	1,00 a	1,00 a	2,96 a
FT-Cristalina RCH TP	1,00 a	1,00 a	2,70 b
FT-Cristalina RCH TN	1,00 a	1,00 a	2,93 ab
Média	1,00 A	1,00 C	2,86 A
Doko-RC Comercial	1,00 a	1,20 a	2,59 a
Doko-RC TP	1,00 a	1,15 a	2,17 b
Doko-RC TN	1,00 a	1,08 a	2,26 b
Média	1,00 A	1,14 B	2,34 B
IAC-12 Comercial	1,00 a	2,64 b	2,03 a
IAC-12 TP	1,00 a	3,47 a	1,92 a
IAC-12 TN	1,00 a	3,58 a	2,04 a
Média	1,00 A	3,23 A	2,00 C

^{1/} Nas colunas, médias de variedades, seguidas das mesmas letras maiúsculas ou de tipos de materiais genéticos dentro das mesmas variedades, seguidas das mesmas letras minúsculas, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

De acordo com BOWERS JUNIOR et al. (1993) e KILEN e HARTWIG (1987), dois genes dominantes conferem resistência na variedade Tracy-M. SIVIERO (1992), OLIVEIRA (1993), CARVALHO (1995) e TYLER (1996) detectaram a presença de um gene controlando a resistência ao cancro-da-haste da soja. Segundo SILVA (1998), a variedade IAC-12 é resistente ao patógeno do cancro-da-haste, sendo essa resistência governada por dois genes independentes.

No trabalho de melhoramento conduzido pela Universidade Federal de Viçosa, os progenitores FT-Cristalina, Doko-RC e IAC-12 foram escolhidos porque se mostraram resistentes ao cancro-da-haste em testes anteriores. O pequeno número de genes envolvidos na resistência a determinado isolado tem facilitado a manutenção deles no processo de seleção monitorado por marcadores moleculares, o que está sendo confirmado pelos resultados obtidos no presente trabalho.

O fato de poucos genes estarem envolvidos nessa resistência assegura alta herdabilidade do caráter dos parentais aos descendentes. Entretanto, estudos realizados na EMBRAPA-Soja evidenciaram herança simples monogênica na variedade Tracy-M e em várias outras variedades brasileiros (CÂMARA, 1998). A herança do cancro-da-haste estudada por AZEVEDO (2000) nos cruzamentos avaliados é condicionada por três genes dominantes.

Dessa forma, é possível a incorporação de genes de resistência em cultivares suscetíveis, em curto espaço de tempo, com a utilização de pequenas populações de plantas, pelo fato de a resistência ser oligogênica.

3.2. Oídio

Com respeito ao oídio, não houve interação entre material genético, cultivar e linha de cada material estudado. Observou-se que houve efeito

de variedade, de material genético e da interação variedade x material genético, não havendo efeito de linhas dentro de materiais genéticos (Quadro 1). Pelo exame do quadro de médias (Quadro 2), observou-se que as linhagens TP ou TN foram similares ou pouco mais resistentes que os respectivos progenitores recorrentes, os quais se mostraram suscetíveis na seguinte ordem: IAC-12 menos suscetível, Doko-RC intermediário e FT-Cristalina mais suscetível.

Vários estudos evidenciaram que a resistência da soja *ao Microsphaera diffusa* é controlada por apenas um gene dominante (GRAU e LAURENCE, 1975; BUZZELL e HAAS, 1978; LOHNES e NICKELL, 1994).

JULIATTI et al. (1999), analisando o nível de infecção em 10 variedades de soja com a finalidade de estimar as perdas causadas pelo oídio, encontraram interação entre variedades e época de semeadura altamente significativa, confirmando que a variedade UFV-16 possui alta resistência a essa doença. SILVA e SEGANFREDO (1999) verificaram que o oídio é responsável por perdas econômicas, mesmo com a aplicação de fungicidas na cultura da soja. Portanto, o presente trabalho indica que o melhoramento do sabor da soja, por meio da retirada genética das lipoxigenases das sementes, pode ser realizado concomitantemente com a manutenção da resistência às doenças apresentadas pelos progenitores recorrentes.

3.3. Cercosporiose

Não houve interação entre material genético, cultivar e linha de cada material estudado. Pela análise de variância, foram constatados efeitos significativos de variedade e material genético (material comercial, triplo-positivo-TP ou triplo-nulo-TN), bem como da sua interação entre variedade material genético (Quadro 1). No entanto, não houve variação significativa entre as quatro linhas dentro de cada material genético, bem

como de plantas dentro de linhas dentro de material genético e cultivar. No quadro de médias (Quadro 2), observa-se que as inoculações com *Cercospora sojina* apresentaram diferentes respostas entre as variedades. FT-Cristalina RCH mostrou-se altamente resistente à cercosporiose, com mesmo resultado nas linhagens TP e TN. Doko-RC pode ser considerado resistente, podendo apresentar algum sintoma de infecção, observando-se comportamento semelhante das linhagens derivadas (TP e TN). Por sua vez, IAC-12 mostrou-se medianamente suscetível, entretanto as linhagens derivadas (TP e TN) mostraram-se mais suscetíveis, indicando perda de gene para resistência no processo de melhoramento desse cultivar.

Dessa forma, é possível a incorporação de genes de resistência em cultivares suscetíveis, em curto espaço de tempo, com a utilização de pequenas populações de plantas, pelo fato de a resistência ser oligogênica, segundo ATHOW e PROBST (1952), PROBST e ATHOW (1958), PROBST et al. (1965), LUCENA et al. (1982), PHILLIPS e BOERMA (1982) e CORDEIRO (1986).

O desenvolvimento de variedades resistentes, ou a incorporação de genes de resistência em variedades suscetíveis, é prioridade em muitos programas de melhoramento. No entanto, para maior eficácia no processo de incorporação de genes de resistência, faz-se necessário conhecer melhor o mecanismo de herança da resistência à *Cercospora* (MARTINS FILHO, 1999). Aliado a isso, as ferramentas biotecnológicas, como a utilização de marcadores moleculares de DNA no mapeamento de genes de resistência, tem facilitado o trabalho nos programas de melhoramento para controle das doenças (KELLY et al., 1994); tal fato é demonstrado no presente trabalho.

4. Conclusões

O presente trabalho foi conduzido em condições de casa de vegetação e câmara de nevoeiro pertencente ao BIOAGRO, para avaliar a resistência das plântulas de soja às principais doenças (cancro-da-haste, cercosporiose e oídio). As variedades comerciais estudadas foram FT-Cristalina RCH, Doko e IAC-12 e respectivas linhagens triplo-positivas (presença das três lipoxigenases nas sementes) e triplo-nulas (ausência das três lipoxigenases sementes).

Os seguintes resultados obtidos foram os seguintes:

- Todas as variedades e suas linhagens foram resistentes ao cancro-da-haste.
- As variedades FT-Cristalina RCH e Doko e respectivas linhagens foram resistentes à cercosporiose, porém a variedade IAC-12 e respectivas linhagens foram suscetíveis a esta doença.
- Com relação à doença de oídio, todas as variedades e respectivas linhagens foram suscetíveis.

RESUMO E CONCLUSÕES

O presente trabalho foi realizado no “Campus” da Universidade Federal de Viçosa (UFV), situado em Viçosa, Minas Gerais, no período de março de 1998 a setembro de 1999. As sementes foram analisadas no Laboratório de Biologia Molecular do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) e no Laboratório de Sementes do Departamento de Fitotecnia, sendo a semeadura realizada na Estação Experimental “Diogo Alves de Melo”. As variedades de soja estudadas foram FT-Cristalina RCH, Doko-RC e IAC-12 com as respectivas linhagens triplo-nulas, com ausência das três lipoxigenases nas sementes (designadas FT-Cristalina RCH TN, Doko-RC TN e IAC-12 TN), e as linhagens triplo-positivas, com a presença das três lipoxigenases nas sementes (designadas FT-Cristalina RCHTP, Doko-RC TP e IAC-12 TP).

O objetivo do estudo foi verificar a influência da retirada das lipoxigenases das sementes sobre as características agronômicas, a qualidade fisiológica e sanitária das sementes e a resistência das plântulas de soja às principais doenças (cancro-da-haste, cercosporiose e oídio).

Os resultados obtidos permitiram a conclusão de que:

- As características agronômicas avaliadas nas três variedades e nas respectivas linhagens, com ou sem as três lipoxigenases, não foram afetadas pela eliminação genética das lipoxigenases nas sementes. No caso da linhagem triplo-nula, foram observados valores superiores nas características agronômicas em relação às da variedade comercial. Porém, as variedades comerciais demonstraram valores médios mais homogêneas do que as demais linhagens.

- A melhor época de semeadura para obtenção dos maiores valores médios das características agronômicas foi diferente para as três variedades: a primeira época para a variedade FT-Cristalina RCH e a segunda época para as variedades Doko RC e IAC-12.
- Para a qualidade fisiológica e sanitária das sementes, a variedade IAC-12 com suas linhagens foi a que apresentou melhor qualidade fisiológica e sanitária de sementes, ficando a pior qualidade com a variedade FT-Cristalina RCH.
- As linhagens comerciais foram significativamente superiores às linhagens positivas, tendo o pior desempenho as linhagens triplo-nulas.
- A melhor época de semeadura para obter melhor qualidade fisiológica e sanitária das sementes depende de cada variedade: para a variedade FT-Cristalina RCH foi a terceira época de semeadura, para Doko a segunda e para a IAC-12 a primeira.
- Com relação à característica agronômica de resistência às doenças de cancro-da-haste, cercosporiose e oídio, pôde-se concluir o seguinte:
 - Todas as variedades e suas linhagens foram resistentes ao cancro-da-haste.
 - As variedades FT-Cristalina RCH e Doko RC foram resistentes à cercosporiose, porém a variedade IAC-12 foi suscetível a essa doença.
 - Todas as variedades e respectivas linhagens foram suscetíveis ao oídio.
 - Genes que codificam para eliminação genética das lipoxigenases não estão correlacionados com a resistência a essas três doenças.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANAND, S.C.; TORRIE, J.H. Heritability of yield and other traits and interrelationships among traits in the F3 e F4 generations of three soybean crosses. **Crop Science**, Madison, v.32, n.3, p.508-511, 1963.

ARANTES, N.E.; NOGUEIRA, P.R. **Recomendações de cultivares de soja para Minas Gerais, genealogia, descrição e comportamento**. Uberaba, MG: FUNAP, 1989. 36p.

ATHOW, K.L.; PROBST, A.H. The inheritance of resistance to frog-eye leaf spot of soybean. **Phytopathology**, v.42, n.12, p.660-662, 1952.

ATHOW, L.K. Fungal diseases. In: WILCOS, J.R. (Ed.). **Soybeans improvement, production and uses**. Madison, n.12, p.687-720, 1987.

AXELROD, B. Lipoxygenases. **Advanced Chemistry Series**, v.2, n.1, p.342-348, 1974.

AZEVEDO, P.H. **Avaliação da germinação e sanidade de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), com presença e ausência de lipoxigenases, produzidas em diferentes regiões de Minas Gerais**. Viçosa, MG: UFV, 1998. 94f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

AZEVEDO, V.H. **Herança da resistência da soja ao *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* e eficiência na seleção de caracteres agrônômicos**. Viçosa, MG: UFV, 2000. 102f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

BAILLY, C.; BENAMAR, A.; CORBINEAU, F.; COME, D. Changes in superoxide, dismutase, catalase and glutathione reductase activity in sunflower seeds during accelerated ageing and subsequent priming. In: FIFTH INTERNATIONAL WORKSHOP ON SEEDS, 5, 1995, Reading. **Proceedings...** Reading: The University of Reading, 1997. p.665-672.

BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 3.ed. Minneapolis: Burgess Publishing Company, 1972. 241p.

BERNARD R.L. Two major genes for time of flowering and maturity in soybeans. **Crop Science**, Madison, v.11, n.2, p.242-244, 1971.

BEWLEY, D.J.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2.ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BHERING, M.C.; REIS, M.S.; SEDIYAMA, T.; SEDIYAMA, C.S. ANDRADE, M.A.S. Influência de épocas de plantio sobre algumas características agrônômicas da soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Revista Ceres**, v.38, n.219, p.396-407, 1991.

BOWERS JUNIOR, G.R.; NGELEKA, K.; SMITH, O.D. Inheritance of stem canker in soybean variedades Crockett and Dowling. **Crop Science**, v.33, n.1, p.67-70, 1993.

BRACCINI, A.L. **Avaliação da qualidade fisiológica da semente de linhagens e variedade de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) com diferentes graus de impermeabilidade do tegumento**. Viçosa, MG: UFV, 1993. 109f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

BRAGA, M.C.T. **Estudo de dois loci determinantes da resistência da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) à *Cercospora sojina* Hara**. Viçosa, MG: UFV, 1987. 51f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: 1992. 365 p.

BUZZELL, R.I.; HASS, J.H. Inheritance of adult plant resistance to powdery mildew in soybeans. **Canadian Journal Genetics Cytology**, v.20, n.1, p.151-153, 1978.

CÂMARA, G.M.S. **Soja, tecnologia de produção**. Piracicaba, SP: ESALQ, 1998. 293p.

CARVALHO, G.A. **Marcadores RAPD ligados a genes de resistência ao cancro da haste da soja**. Viçosa, MG: UFV, 1995. 51f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CARVALHO, N.M. O conceito de vigor em sementes. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal, SP: FUNEP, 1994. Cap. 1, p.1-30.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal, SP: Funep, 2000. 588p.

CASELA, C.R.; BRANÇÃO, N.; GASTAL, M.F.C. Mancha “olho-de-rã” (*Cercospora sojina* Hara) em soja (*Glycine max* (L.) Merrill). In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 1, 1978, Brasília. **Anais...** Londrina, PR: EMBRAPA/CNPSo, 1978. v.2, p.139-143.

CASELA, C.R.; BRANÇÃO, N.; GASTAL, M.F.C. Raças fisiológicas de *Cercospora sojina* Hara, agente causal da mancha “olho-de-rã” em soja (*Glycine max* (L.) Merrill). In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 2, Brasília. **Anais...** Londrina, PR: EMBRAPA/CNPSo, 1981. v.2, p.255-258.

CORDEIRO, A.C.C. **Herança da resistência da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) à *Cercospora sojina* Hara, isolado de São Gotardo, Minas Gerais**. Viçosa, MG: UFV, 1986. 61f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

COSTA, A.F.S. **Avaliação da qualidade fisiológica das sementes de genótipos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), produzidas em cinco localidades do Estado de Minas Gerais**. Viçosa, MG: UFV, 1986. 110f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

COSTA, N.P.; MESQUITA, C.M.; MAURINA, C.M.; BORDIGNON, J.R.; MANDARINO, J.M.G.; FRANÇA NETO, J.B.; KRZYŻANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A.; PEREIRA, J.E. Avaliação e controle de qualidade de sementes e grãos de soja produzidos no Brasil, na safra 1998/1999. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 22., Londrina. **Resumo...** Londrina, PR: EMBRAPA-CNPSo, 2000. p.207.

COSTA, N.P.; PEREIRA, L.A.G.; FRANÇA NETO, J.B.; HENNING, A.A.; KRZYZANOWSKI, F.C. Zoneamento ecológico do estado do Paraná para a produção de sementes de cultivares precoces de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.16, n.1, p.12-19, 1994.

CRALL, J.M. A toothpick tip method of inoculation. **Phytopathology**, v.42, n.1, p.5-6, 1952.

DEMSKI, J.K.; PHILLIPS, D.V. Reaction of soybean cultivars to powdery mildew. **Plant Disease Reporter**, v.58, n.8, p.723-726, 1974.

DESTRO, D.; SEDIYAMA, T.; GOMES, J.L.L. Genes qualitativos em soja. Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 1990. 67p.

DIAS, A.C.P. **Atividade de lipoxigenases durante a germinação e qualidade fisiológica de sementes de soja**. Viçosa, MG: UFV, 1999. 68f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Agronegócio da soja no Brasil. In: **Recomendações técnicas para a cultura da soja na região central do Brasil 2000/2001**. Londrina, PR: EMBRAPA Soja. – Londrina: EMBRAPA Soja/Fundação MT, 2000. p.11-46.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Recomendações técnicas para a cultura da soja na região central do Brasil 1999/2000**. Londrina, PR: EMBRAPA 1999. 226p. (Embrapa Soja. Documentos, 132; Embrapa Agropecuária Oeste, 5).

ESASHI, H.; KAMATAKI, A.; ZANG, M. The molecular mechanism of seed deterioration in relation to the accumulation of protein-acetaldehyde adducts. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON SEEDS, 15, 1997, Reading. **Proceedings...** Reading: The University of Reading, 1997. p.489-498.

FEHR, W.R. Breeding. In: NORMAN, A.G. (Ed.). **Soybean physiology agronomy, and utilization**. New York: Academic Press, 1978. p.119-155.

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E.; BURMOOD, D.T.; PENNINGTON, J.S. **Stage of soybean development**. Ames, Iowa: Iowa state University, Cooperative Extension Service, 1977. 11p. (Special Report 80).

FEUSSNER, I.; HAUSE, B.; NELLEN, A.; WASTERACK, C.; KINDL, H. Lipid-body lipoxygenase is expressed in cotyledons during germination prior to other lipoxygenase forms. **Planta**, v.198, n.2, p.288-293, 1996.

FEUSSNER, I.; WASTERACK, C.; KINDL, H.; KUHN, H. Lipoxygenase – catalyzed oxygenation of storage lipids is implicated in lipid mobilization during germination. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.92, n.20, p.11849-11853, 1995.

FRANÇA NETO, J.B.; HENNING, A.A. **Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja**. Londrina, PR: EMBRAPA-CNPSO, 1984. 39p. (EMBRAPA-CNPSO. Circular Técnica, 9).

FRANÇA NETO, J.B.; KRZYŻANOWSKI, F.C. **Sementes enrugadas: novo problema da soja**. Londrina, PR: EMBRAPA-CNPSO, 1990. 4p. (EMBRAPA-CNPSO, Comunicado Técnico, 46).

GOMES, J.L.L.; SEDIYAMA, T.; REIS, M.S.; SEDIYAMA, C.S.; ROCHA, V.S.; OLIVEIRA, A.B.; BHERING, M.C.; TEIXEIRA, R.C.; BRITO, J.H.; BRITO, S.A.; FRONZA, V.; VILARINHO, F.M.A. Cancro da haste da soja: doença causada pelo fungo *Diaporthe phaseolorum f. sp. meridionalis*. In: **Encontro de defesa sanitária vegetal**. Barreiras, BA: [s.n.], 1994. p.6.

GONÇALVES, M.C. **Influência da época de semeadura, em regime de irrigação suplementar ou de sequeiro, sobre a produção e qualidade de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. Viçosa, MG: UFV, 1989. 253f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

GOULART, A.C.P. Qualidade sanitária de sementes de soja produzidas em Mato Grosso do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1999, Londrina, **Anais...** Londrina, PR: EMBRAPA Soja, 1999. p.444. (EMBRAPA Soja – Documentos, 124).

GRAU, C.R.; LAURENCE, J.A. Observations on resistance and heritability of resistance to powdery mildew of soybean. **Plant Disease Reporte**, v.59, n.6, p.458-460, 1975.

HAIKA, K.; IGITA, K.; KITAMURA, K. A line lacking all three the seed lipoxygenase isozymes in soybean induced by gamma-ray irradiation. **Japan Journal Breeding**, v.41, n.1, p.507-509, 1991.

HARMAN, G.E.; MATTICK, L.R. Association of lipid oxidation with seed ageing and death. **Nature**, v.260, n.5549, p.323-324, 1976.

HENNING, A.A. **Patologia de sementes**. Londrina, PR: EMBRAPA-CNPSO, 1994. 43p. (EMBRAPA-CNPSO. Documentos, 90).

HENNING, A.A. Testes de sanidade de sementes de soja. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V.S. (Eds.). **Patologia de sementes**. Campinas, SP: Fundação Cargill, 1987. p.441-453.

HILDEBRAND, D.F. Lipoxygenases. **Physiologia Plantarum**, v.76, n.2, p.249-253, 1989.

HILDEBRAND, D.F.; HYMOWITZ, T. Inheritance of lipoxygenase-1 activity in soybean seeds. **Crop Science**, v.22, n.4, p.851-853, 1982.

JOHNSON, H.W.; BERNARD, R.L. Soybean genetics and breeding. In: NORMAN, A.G. (Ed.). **The soybean**. New York: Academic Press, 1963. p.1-63.

JULIATTI, F.C.; LINS, P.Z.; SANTOS, V.L.M.; HAMAWAKI, O.T. Avaliação de variedades de soja a Oídio (*Microspora diffusa*) no inverno em Uberlândia – MG. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1999. Londrina. **Anais...** Londrina, PR: EMBRAPA Soja, 1999. p.446. (EMBRAPA Soja – Documentos, 124).

KATARI, P.K.; TAYLOR, A.G. Ethanol, a respiratory by-product: Na indicator of seed quality. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON SEEDS, 1997, Reading. **Proceedings...** Reading: The University of Reading, 1997. p.421-427.

KATO, T.; OHTA, H.; TANAKA, K.; SHIBATA, D. Appearance of new lipoxygenases cotyledons after germination and evidence for expression of major new lipoxygenase gene. **Plant Physiology**, v.98, n.2, p.324-330, 1992.

KEELING, B.L. A seedling test for resistance to soybean stem canker caused by *Diaporthe phaseolorum* var. caulivora. **Phytopathology**, v.77, n.7, p.807-809, 1982.

KELLY, J.; HALEY, S.; AFANADOR, L. Application of RAPD markers for disease resistance breeding in beans. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v.37, n.3, p.15-16, 1994.

KHAN, M.M.; HENDRY, G.A.F.; ATHERTONS, N.M.; VERTUCCI-WALTERS, C.W. Free radical accumulation and lipid peroxidation in testas of rapidly aged soybean seeds: a light- promoted process. **Seed Science Research.**, v.6, n.2, p.101-107, 1996.

KILEN, T.C.; HARTWIG, E.E. Identification of single gens controlling resistance to stem canker in soybean. **Crop Science**, v.27, n.5, p.863-864, 1987.

KILEN, T.C.; KEELING, B.L.; HARTWIG, E.E. Inheritance of reaction to stem canker in soybean. **Crop Science**, v.25, n.1, p.50-51, 1985.

KITAMURA, K.; DAVIES, C.S.; KAIZUMA, N.; NIELSEN, N.C. Genetic analysis of a null-allele for lipoxygenase-3 in soybean seeds. **Crop Science**, v.23, n.5, p.924-927, 1983.

KITAMURA, K.; KUMAGAI, T.; KIKUCHI, A. Inheritance of lipoxygenase-2 and genetic relationships among genes for lipoxygenase-1, 2 and 3 isozymes in soybean seeds. **Japan Journal Breeding**, v.35, n.2, p.413-420, 1985.

KNOW, S.H.; TORRIE, J.H. Heritability of and interrelationships among traits of two soybean populations. **Crop Science**, Madison, v.4, n.1, p.196-198, 1964.

KRYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETTO, J.B.; HENNING, A.S. Relato dos testes de vigor disponíveis para grandes culturas. **Informativo ABRATES**, v.1, n.1, p.15-50, 1991.

LANNA, A.C. **Caracterização cinética do sistema lipoxigenase de folhas de soja de genótipos com ou sem lipoxigenases nas sementes.** Viçosa, MG: UFV, 1995. 79f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

LANZA, M.A. **Marcadores moleculares RAPD na introgressão de genes para ausência de lipoxigenases e da proteínas A5A4B3 em soja (*Glycine max* (L.) Merrill).** Viçosa, MG: UFV, ??data??. 57f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

LOHNES, D.G.; BERNARD, R.L. Inheritance of resistance to powdery mildew in soybeans. **Plant Disease**, v.76, n.9, p.964-965, 1992.

LOHNES, D.G.; NICKELL, C.D. Effects of powdery mildew alleles Rmd-c, Rmd, and rmd on yield and other characteristics in soybean. **Plant Disease**, v.78, n.3, p.299-301, 1994.

LUCENA, J.A.M.; CASELA, C.R.; GASTAL, M.F.C. Doenças da soja: In: VERNETTI, F.J. **Soja: planta, clima, pragas, moléstias e invasoras**. Campinas, SP: Fundação Cargill, 1983. v.1, p.341-347.

LUCENA, J.A.M.; GASTAL, M.F.C.; CASELA, C.R.; VERNETTI, F.J. Herança da resistência à raça 4 de *Cercospora sojina* Hara em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.17, n.12, p.1751-1755, 1982.

MARCOS FILHO, J. Maturidade fisiológica de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.15, n.4, p.447-460, 1980.

MARCOS FILHO, J. **Produção de semente de soja**. Campinas, SP: Fundação Cargill, 1986. 86p.

MARTINS FILHO, S. **Mancha olho-de-rã da soja: análise genética da resistência e identificação de marcadores moleculares**. Viçosa, MG: UFV, 1999. 59f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MOREIRA, M.A.; RESENDE, S.T.; RAMOS, V.; BARROS, E.G. Hexanal production and TBA number are reduced in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seeds lacking lipoxygenase isozymes 2 and 3. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.41, n.1, p.103-106, 1993.

MOREIRA, M.A.; RESENDE, S.T.; SEDIYAMA, C.S.; GOMES, J.C. Obtenção de variedades es de soja de sabor agradável e com sementes de alta qualidade fisiológica. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. (Eds.). **Técnica e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília, DF: ABCTP, 1990. p.417-426.

MORO, G.L. **Herança da precocidade, herdabilidade de alguns caracteres agronômicos, correlações entre estes caracteres e heterose em soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. Viçosa, MG: UFV, 1990. 57f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

NARVEL, J.M.; FEHR, W.R.; WELKE, G.A. Agronomic and seed traits of soybean lines lacking seed lipoxygenases. **Crop Science**, v.38, n.6, p.926-928, 1998.

OLIVEIRA, A.L. **Herança da resistência ao cancro da haste *Diaporthe phaseolorum* (Cke. & ELL) sacc. f. sp. meridionalis MORGAN-JONES em soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. Jaboticabal, SP: UNESP, Impr. Univ., 1993. 40f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal.

OLIVEIRA, D.A. **Qualidade fisiológica e produção de aldeídos em sementes de linhagens com ausência de lipoxigenases e em sementes de variedades es de soja**. Viçosa, MG: UFV, 1996. 67f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

OLIVEIRA, D.A.; PIOVESAN, N.D.; MORAES, R.M.A.; ROCHEBOIS, G.B.; OLIVEIRA, M.G.A.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Identification of the three genotypic classes for soybean lipoxygenases 1 and 3 based on enzymatic activity. **Biotechnology Techniques**, v.12, n.1, p.71-74, 1998.

OLIVER, A.; HSIEH, A.L.; HUANG, S. Isolation and identification of objectionable volatile flavor compounds in defatted soybean flour. **Journal Food Science**, v.47, n.1, p.16-18, 1982.

PARK, T.K.; POLACCO, J.C. Distinct lipoxygenase species appear in the hypocotyl radicle of germinating soybean. **Plant Physiology**, v.90, n.2, p.285-290, 1989.

PARRISH, D.J.; LEOPOLD, A.C. On the mechanism of aging in soybean seeds. **Plant Physiology**, v.61, n.2, p.365-368, 1978.

PEREIRA, A.A.; ZAMBOLIM, L.; CHAVES, G.M. Melhoramento visando resistência à doenças. **Informe Agropecuário**, v.11, n.122, p.88-92, 1985.

PEREIRA, L.A.G.; COSTA, N.F.; QUEIROZ, E.F.; NEUMAIER, N.; TORRES, E. Efeito da época de semeadura sobre a qualidade da semente de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.1, n.3, p.77-89, 1979.

PFEIFFER, T.W.; HILDEBRAND, D.F.; TEKRONY, D.M. Agronomic performance of soybean lipoxygenase isolines. **Crop Science**, Madison, v.32, n.1, p.357-362, 1992.

PHILLIPS, D.V.; BOERMA, H.R. Two genes for resistance to race 5 of *Cercospora sojina* in soybeans (*Glycine max*). **Phytopathology**, v.72, n.7, p.764-766, 1982.

PROBST, A.H.; ATHOW, K.L. Additional studies on the inheritance of resistance to frog eye leaf spot on soybean. **Phytopathology**, v.48, n.8, p.414-416, 1958.

PROBST, A.H.; ATHOW, K.L.; LAVIOLETTE, F.A. Inheritance of resistance to race 2 of *Cercospora sojina* in soybeans. **Crop Science**, v.5, n.4, p.332, 1965.

QUEIROZ, L.R. **Produção de aldeídos na germinação e qualidade fisiológica de sementes de genótipo de soja com ausência de lipoxigenases**. Viçosa, MG: UFV, 1993. 52f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

QUEIROZ, T.F.N. **Qualidade fisiológica de sementes de genótipos de soja sem lipoxigenases**. Viçosa, MG: UFV, 2000. 52f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

RACKIS, J.J.; SESSA, D.J.; HONIG, D.H. Flavor problems of vegetable food proteins. **Journal American Oil chemists Society**, v.56, n.3, p.262-271, 1979.

REIS, E.M. A mancha foliar “olho-de-rã” em soja. **Lavoura Arrozeira**, v.27, n.279, p.4-8, 1974.

ROSS, J.P. Additional Physiological races of *Cercospora sojina* on soybean in North Caroline. **Phytopathology**, St. Paul, v.58, n.5, p.708-709, 1968.

SAKIYAMA, N.S. **Herdabilidade, correlação e seleção de genótipos de ciclo precoce, em soja (*Glycine max* (L.) Merrill) efetuadas em plantio de inverno e verão**. Viçosa, MG: UFV, 1989. 57f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SEDIYAMA, T.; ALMEIDA, L.A.; MIYASAKA, S.; KIIHL, R.A.S. Genética e Melhoramento. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J.C. (Eds.). **A soja no Brasil**. Campinas, SP: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1981a. p.209-225.

SEDIYAMA, T.; PEREIRA, M.G.; SEDIYAMA, C.S.; GOMES, J.L.L. **Cultura da soja, II**. Viçosa, MG: UFV, 1996. 75f. (Boletim Técnico, 212)

SEDIYAMA, T.; REIS, M.S.; SEDIYAMA, TOCIO; DESTRO, D. **Produção de sementes de soja em Minas Gerais**. Viçosa, MG: UFV, 1981b. 61p.

SEDIYAMA, T.; TEIXEIRA, R.C.; REIS, M.S. Melhoramento da soja. In: BORÉM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa, MG: UFV, 1999. p.487-533.

SHERWIN, H.S.; KREITLOW, K.W. Discoloration on soybean seeds by the frog-eye fungus *Cercospora sojina*. **Phytopathology**, v.42, n.10, p.568-572, 1952.

SILVA, M.A. **Resistência ao cancro da haste da soja: herança e identificação de marcadores moleculares**. Viçosa, MG: UFV, 1998. 43p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SILVA, O.C.; SEGANFREDO, R. Quantificação de danos ocasionados por doenças de final de ciclo e oídio, em dois cultivares de soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1999, Londrina. **Anais...** Londrina, PR: EMBRAPA Soja, 1999. p.460. (EMBRAPA Soja - Documentos, 124).

SINCLAIR, J.B. **Compedium of soybeans diseases**. 2.ed. Minnesota: American Phytopathological Society, 1982. 104p.

SIVIERO, A. **Herança da resistência da soja a *Diaporthe phaseolorum f. sp. meridionalis***. Piracicaba, SP: ESALQ, 1992. 39f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz, Piracicaba.

SUDA, I.; HAJIKA, M.; NISHIBA, Y.; FURUTA, E.; IGITA, K. Simple and rapid method for the selective detection of individual lipoxygenase isozymes in soybean seeds. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.43, n.3, p.742-747, 1995.

TAKETA, S.T. **Comportamento da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) com ausência de três isoenzimas lipoxigenases, em diferentes épocas de plantio, em duas localidades de Minas Gerais.** Viçosa, MG: UFV, 2000. 69f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

TYLER, J.M. Characterization of stern canker resistance in "Hutcheson" soybean. **Crop Science**, v.36, n.3, p.591-593, 1996

URBEN FILHO, G.; SOUZA, P.I.M. Manejo da cultura da soja sob cerrado: época, densidade e profundidade de semeadura. In: ARANTES, N.E.; SOUZA, P.I.M. (Eds.). **Cultura da soja no cerrado**. Piracicaba, SP: POTAFOS, 1993. p.276-298.

URBEN FILHO, G.; SPEHAR, C.R.; SOUZA, P.I.M. Efeito de época de semeadura sobre genótipos de soja adaptados aos Cerrados de baixa latitude. In: RELATÓRIO TÉCNICO ANUAL DO CPAC 1982/1985. **Resumo...** Brasília, DF: EMBRAPA-CPAC-Cerrados, 1987. p.305-311.

VEIGA, P. ***Cercospora sojina* Hara: obtenção de inóculo, inoculação e avaliação da resistência em soja (*Glycine max* (L.) Merrill).** Piracicaba, SP: ESALQ, 1973. 32f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

VICK, B.A.; ZIMMERMAN, D.C. Lipoxygenase and hydroperoxide lyase in germinating watermelon seedling. **Plant Physiology**, v.57, n.5, p.780-788, 1976.

WHIGHAM, K.; MINOR, H.C. Agronomic characteristics and environmental stress. In: NORMAN, A.G. (Ed.). **Soybean physiology, agronomy and utilization**. New York: Academic Press, 1978. p.77-118.

WILSON JUNIOR; D.O.; McDONALD JUNIOR, M.B. The lipid peroxidation model of seed ageing. **Seed Science & Technology**, v.14, n.2, p.269-300, 1986.

WOLF, W.J. Lipoxygenase and flavor of soybean protein products. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.23, n.2, p.136-141, 1975.

YORINORI, J.T. **Cancro da haste da soja: epidemiologia e controle**. Londrina, PR: EMBRAPA-CNPSO, 1996. 75p. (Embrapa Soja, Circular Técnica, 14).

YORINORI, J.T. Doenças. In: **Soja no Paraná**. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Curitiba, PR: Instituto de Pesquisa Agropecuária Meridional (IPEAME), 1990. 29p. (Circular, 9).

YORINORI, J.T. Estratégias de controle das doenças da soja. **Correio Agrícola**, 2/1998. São Paulo: [s.n.], 1998. p.8-12.

YORINORI, J.T. Metodologia de produção de *Diaporthe phaseolorum f. sp. meridionalis*. **Fitopatologia Brasileira**, v16, n.1, p.58, 1991.

YORINORI, J.T. Riscos de surgimento de novas doenças na cultura da soja. Resumo das Palestras. TECNOLOGIA E COMPETITIVIDADE DA SOJA NO MERCADO GLOBAL, 28 a 30/08 de 2000. **Anais...** Cuiabá, MT: [s.n.], 2000. p.165-169.

YORINORI, J.T. Sucesso e novos desafios no controle de doenças fúngicas da soja através da resistência genética no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1999. **Anais...** Londrina, PR: EMBRAPA Soja, 1999. p.449. (EMBRAPA Soja – Documentos, 124).

YORINORI, J.T. Variedades de soja resistentes à *Microsphaera diffusa*. **Fitopatologia Brasileira**, v.22 (suplemento), p.320-321. 1997. (Resumo, 516).

YORINORI, J.T.; KLINGELFUSS, L. Novas raças de cercospora sojina. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 22., 9-11 de fev. de 1999, Jaboticabal. **Programa e Resumos...** Jaboticabal, SP: Grupo Paulista de Fitopatologia, 1999. p.101-102.