

RAFAEL DELMOND BUENO

**ANÁLISES BIOMÉTRICAS DA PRODUTIVIDADE, COMPOSIÇÃO DE
AÇÚCARES SOLÚVEIS E POLISSACARÍDEOS NÃO-AMÍDICOS (PNAs) NA
SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE SOJA**

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

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009**

RAFAEL DELMOND BUENO

**ANÁLISES BIOMÉTRICAS DA PRODUTIVIDADE, COMPOSIÇÃO DE
AÇÚCARES SOLÚVEIS E POLISSACARÍDEOS NÃO-AMÍDICOS (PNAs) NA
SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE SOJA**

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

APROVADA: 17 de fevereiro de 2009

Prof. Everaldo Gonçalves de Barros
(Co-orientador)

Prof^ª. Valéria Monteze Guimarães

Dr. Newton Deniz Piovesan

Prof. Pedro Ivo Vieira Good God

Prof. Maurílio Alves Moreira
(Orientador)

A Deus, por sempre iluminar meu caminho
Aos meus pais Amilton e Evanir, pelo exemplo de luta e esforço para
garantir educação à mim e meu irmão
As meu irmão George, pelo companheirismo e exemplo de dedicação
A minha avó Carolina pelo carinho e por tudo mais.

Por tudo que significam para mim

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao senhor bom Deus, sobretudo. A estrela sempre presente que guia e ilumina as trilhas do meu viver. Obrigado Senhor!

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, pela oportunidade de realizar o Mestrado.

À FAPEMIG, pelo apoio financeiro concedido para a realização deste trabalho.

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

Ao meu professor e orientador Maurílio Alves Moreira eterno exemplo a seguir, por ter aberto as portas da pesquisa científica, pelos ensinamentos, pela orientação, amizade, paciência, compreensão e confiança, durante todo o curso de Mestrado.

Aos professores Everaldo Gonçalves de Barros, Maria Goreti de Almeida e Sebastião Tavares, pela orientação, e pelo apoio e pela disponibilização de recursos.

Ao Laboratório de Celulose e Papel, UFV, em especial ao professor Jorge Luiz Colodette e ao Funcionário José Mauricio.

Aos amigos Dr. Newton Deniz Piovesan e Prof. Pedro Ivo pelos conselhos, pela amizade, pelas críticas e sugestões e pelo apoio fundamental no desfecho deste trabalho.

Ao secretário Eduardo pelo carinho, dedicação e boa vontade indispensáveis em todos os momentos.

A todos os professores da UFV que contribuíram direta ou indiretamente na minha formação pessoal e profissional.

Ao amigo e Prof. Fábio Demolinari de Miranda, pelo apoio e pelas sugestões.

Ao estudante e estagiário Leandro pela amizade e dedicação prestadas ao presente trabalho.

Aos amigos de laboratório: Julierme, Marcelo, Josiane, Fernanda, Josie, Bruno, Gabriela, Marcos, Daniel, Márcia Flores, Klever, Demerson, Janaina, Loreta.

Aos funcionários e amigos, Gláucia, Cássio, Fausto e Sandra Machado pela colaboração nas análises bioquímicas e pela amizade.

Ao amigo Eduardo pelos ensinamentos e constante apoio.

Ao camarada de laboratório, Reginaldo (Naldo) pela amizade.

A todos os demais colegas do laboratório pelo apoio.

A todos os meus familiares e amigos que torcem pelo meu sucesso.

Aos amigos de Mestrado, Paty, Larissa, Rony, Edvaldo, Wendel, Ritinha e Francini.

As amigas muito especiais Michele, Nani e Robis, pela amizade e convivência muito especial.

Ao “amigo irmão” Glauco pela amizade, trocas de experiências, nas mais diversas áreas e pela parceria em muitas situações nem sempre fáceis.

Em especial aos meus pais, pelo amor, carinho, dedicação e apoio em todos os momentos de minha vida.

Ao meu irmão, minha avó, meus tios e tias, primos e primas, pelo carinho e apoio depositados em mim.

A todos aqueles que colaboraram e torceram pelo meu sucesso.

BIOGRAFIA

RAFAEL DELMOND BUENO, filho de Amilton de Souza Bueno e Evanir Delmond Bueno, nasceu em 08 de junho de 1981, São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil.

Em Dezembro de ano de 2006, formou-se em Ciências Biológicas – Licenciado-pela Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, em Três Lagoas, Mato Grosso do Sul.

Em março do ano de 2007, ingressou no Curso de Mestrado em Bioquímica Agrícola da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais, submetendo-se à defesa de tese em fevereiro de 2009.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	ix
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. OBJETIVOS GERAIS	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1. Importância econômica da soja no Brasil	5
3.2. A soja como fonte de alimento	6
3.3. Fatores antinutricionais da soja	8
3.3.1. Inibidores de tripsina e quimotripsina	8
3.3.2. Lectinas	8
3.3.3. Polissacarídeos não-amídicos	9
3.3.3.1. Polissacarídeos não-amídicos insolúveis	12
3.3.3.2. Polissacarídeos não-amídicos solúveis	12
3.3.4. Celulose, Hemicelulose e Pectina	13
3.3.5. Biossíntese e papel fisiológico dos oligossacarídeos de rafinose	15
3.3.6. Ocorrência e distribuição dos oligossacarídeos de rafinose em plantas	17
3.3.7. Implicações nutricionais dos oligossacarídeos de rafinose	18
3.4. Correlações	19
3.5. Interação genótipo x ambiente	21
3.6. Adaptabilidade e estabilidade	22
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
CAPÍTULO 1 - AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO GENÓTIPO × AMBIENTE E ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE PRODUTIVIDADE, CONTEÚDOS DE PROTEÍNA, SACAROSE, RAFINOSE E ESTAQUIOSE EM GRÃOS DE SOJA	31
RESUMO	32
1. INTRODUÇÃO	34
2. OBJETIVOS	37
3. MATERIAL E MÉTODOS	38
3.1. Material genético	38
3.2. Método da absorção no infravermelho	39
3.3. Extração e determinação dos oligossacarídeos de rafinose	39
3.4. Análises estatísticas	40
3.4.1. Método proposto por Lin e Binns (1988) modificado por Carneiro (1998)	41
3.4.2. Método do Centróide	42
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1. Resumo da análise de variância	45
4.2. Análise de adaptabilidade e estabilidade segundo a metodologia de Lin e Binns (1988) modificado por Carneiro (1998)	47
4.3. Análise segundo o Método Centróide (Rocha <i>et al.</i> 2005)	63
4.4. Correlação entre Produtividade e Componentes Bioquímicos da soja	78
5. CONCLUSÕES	82
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
CAPÍTULO 2 – QUANTIFICAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS NÃO-AMIDÍCOS (PNAS) E ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE PRODUTIVIDADE,	87

COMPONENTES BIOQUÍMICOS E ANTINUTRICIONAIS DA SOJA	
RESUMO	88
1. INTRODUÇÃO	90
2. OBJETIVOS	92
3. MATERIAL E MÉTODOS	93
3.1. Material genético	93
3.2. Análise dos Polissacarídeos não-amídicos (PNAs)	93
3.2.1. Extração dos Polissacarídeos não amídicos (PNAs)	94
3.2.2. Precipitação e lavagem do resíduo para medir os PNAs totais	94
3.2.3. Extração e lavagem do resíduo para medir os PNAs insolúveis	95
3.2.4. Hidrólise ácida do resíduo	95
3.2.5. Determinação dos monossacarídeos constituintes dos PNAs por HPLC	95
3.2.6. Cálculo de PNA total, solúveis e insolúveis	96
3.2.7. Determinação dos ácidos urônicos	96
3.2.7.1. Preparo das amostras	96
3.2.7.2. Quantificação dos ácidos urônicos por espectrofotômetro	97
3.3. Método da absorção no infravermelho	97
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	98
4.1. Polissacarídeos não-amídicos totais	98
4.2. Polissacarídeos não-amídicos insolúveis	99
4.3. Polissacarídeos não-amídicos solúveis	100
4.4. Análise de correlação da produtividade, concentrações de óleo e proteína em relação às concentrações de PNAs	102
5. CONCLUSÕES	104
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	105

RESUMO

BUENO, Rafael Delmond, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2009. **Análises biométricas da produtividade, composição de açúcares solúveis e polissacarídeos não-amídicos (PNAs) na seleção de genótipos de soja.** Orientador: Maurílio Alves Moreira. Co-Orientadores: Maria Goreti de Almeida Oliveira e Everaldo Gonçalves de Barros

A soja é um grão de alto valor nutricional, é utilizada como base para vários produtos, portanto existe uma demanda crescente por genótipos de soja com alta produtividade e características de qualidade específicas. Assim, torna-se importante a caracterização de genótipos de soja quanto aos componentes bioquímicos relativos à qualidade e também quanto aos fatores antinutricionais, os quais limitam o uso da soja na alimentação humana e de animais monogástricos. Este trabalho teve os seguintes objetivos gerais; avaliar a interação genótipo x ambiente quanto à produtividade e as concentrações de proteína, sacarose, rafinose e estaquiose em soja; estimar as correlações entre caracteres analisados no presente trabalho; Selecionar genótipos de soja, os quais poderão ser utilizados em programas que visam aumentar a qualidade nutricional do grão de soja, visando o uso na alimentação humana e de animais monogástrico. Para isto, foram avaliados 18 genótipos de soja, cultivados nas estações experimentais da COOPADAP situadas nos Municípios de Mineiros-GO, Perdizes-MG, São Gotardo-MG e Presidente Olegário-MG, no ano agrícola 2005/2006. Os experimentos foram executados em blocos casualizados, com três repetições. Foi determinada a produtividade média (Kg ha^{-1}) dos 18 genótipos nos quatro ambientes, assim como, as concentrações: de proteína utilizando um espectrômetro infravermelho (NIR); sacarose, rafinose e estaquiose por HPLC. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do aplicativo computacional em genética e estatística, Programa GENES. Na análise de variância conjunta, verificaram-se efeitos significativos para ambiente e genótipo x ambiente ($p < 0,01$), para todas as cinco características avaliadas. Foram detectados efeitos significativos de genótipo ($p < 0,01$) para produtividade e proteína e ($p < 0,05$) para sacarose e rafinose. As análises de adaptabilidade e estabilidade foram realizadas utilizando-se o método de Lin e Binns (1988) modificado por Carneiro (1998) e método de Centróide. Os dois métodos empregados mostraram coerência e permitiram identificar os genótipos mais estáveis e responsivos a melhoria do ambiente como sendo também os que apresentaram maior

produtividade e maiores concentrações de proteína, sacarose, rafinose e estaquiose. Os genótipos que se destacaram pela ampla adaptabilidade segundo as duas metodologias empregadas no presente trabalho foram; considerando a variável produtividade, as cultivares VENCEDORA e MSOY 8001; para concentração de proteína, a cultivar ELITE; para concentração de sacarose, a linhagem CS 01 736; para a concentração de rafinose, a linhagem CS 02 988 e para a concentração de estaquiose, a cultivar MSOY 8001. Produtividade e concentração de proteína apresentaram correlação negativa, o que mostra que a seleção para um determinado caráter pode provocar o declínio do outro. A correlação entre a produtividade e concentração de sacarose não foi significativa. O mesmo comportamento foi observado entre a concentração de proteína vs concentração de sacarose e entre a concentração de proteína vs concentração de estaquiose. O fato desses caracteres não estarem correlacionados facilita a seleção de genótipos com alta concentração de sacarose e alta produtividade, ou ainda, genótipos com altas concentrações de sacarose e proteína. A correlação entre produtividade vs concentração de rafinose e produtividade vs concentração de estaquiose foram negativas e significativas, essa correlação negativa e significativa facilita a seleção de genótipos com alta produtividade e com baixas concentrações de rafinose e estaquiose. A concentração de sacarose apresentou altos e positivos coeficientes de correlação com as concentrações de rafinose e estaquiose, indicando a impossibilidade de se fazer à seleção direta de indivíduos com alta concentração de sacarose e baixas concentrações de rafinose e estaquiose. A segunda parte do presente trabalho foi realizada utilizando seis genótipos de soja cultivados no Município de Mineiros-GO. Foi demonstrado que a metodologia adaptada para quantificar fatores antinutricionais termoestáveis, tais como, os Polissacarídeos não-amídicos em soja, utilizando a técnica cromatográfica HPLC, se mostrou de boa precisão. Não foi encontrada correlações significativas entre Produtividade vs PNAs, Óleo vs PNAs e Proteína vs PNAs entre os seis genótipos analisados. O fato desses caracteres não estarem correlacionados facilita a seleção de genótipos com melhor qualidade nutricional, pois possibilita ao melhorista diminuir os conteúdos de PNAs totais, PNAs insolúveis e principalmente os PNAs solúveis, sem afetar a produtividade e as concentrações de óleo ou de proteína. As variáveis produtividade e concentração de óleo apresentaram altos e positivos coeficientes de correlação com as concentrações de carboidratos totais e açúcares solúveis, indicando a dificuldade de se fazer a seleção direta de indivíduos com alta produtividade ou altas concentrações de óleo e ao mesmo tempo, com baixas concentrações de carboidratos

totais e açúcares solúveis. Proteína correlacionou-se negativamente com as concentrações de carboidratos totais e açúcares solúveis, esse resultado favorece a seleção de genótipos com altas concentrações de proteína e com baixas concentrações de carboidratos totais e açúcares solúveis.

ABSTRACT

BUENO, Rafael Delmond, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2009. **Biometric analyses of productivity, soluble sugar composition and non-starch polysaccharides (NSP) on soybean genotype selection.** Advisor: Maurílio Alves Moreira. Co-Advisors: Maria Goreti de Almeida Oliveira and Everaldo Gonçalves de Barros

Soybeans have high nutritional values and are used as a base for various products; therefore there is a growing demand for soybean genotypes with high productivity and specific quality characteristics. For this reason it is important to characterize soybean genotypes for biochemical components related to quality and also antinutritional factors which limit its use for human and monogastric animal consumption. The objective of this study had two general objectives: evaluate genotype x location interaction in terms of productivity, and concentrations of proteins, sucrose, raffinose and stachyose in soybeans, estimating correlations between analyzed factors in the present study and; select soybean genotypes which can be used in programs which intent to increase the nutritional quality of soybeans for humans and monogastric animals. A total of 18 soybean genotypes were evaluated, gathered from COOPADAP experimental sites in the municipalities of Mineiros-GO, Perdizes-MG, São Gotardo-MG and Presidente Olegário-MG during the 2005/2006 harvest. Experiments were performed in randomized blocks with three repetitions. Average yield (Kg ha^{-1}) of the 18 genotypes at the four different locations were determined as well as concentrations of protein using near infrared spectroscopy (NIR) and sucrose, raffinose and stachyose by HPLC. Statistical analyses were performed with the help of a genetic and statistical computational program (GENES Program). During analysis of joint variance, significant effects were verified for location and genotype x location ($p < 0.01$), for all five evaluated characteristics. Significant effects of the genotype were detected ($p < 0.01$) for yield and protein and ($p < 0.05$) for sucrose and raffinose. Adaptability and stability analyses were performed using the Lin and Binns (1988) method, modified by Carneiro (1998), and the Centroid method. Both models showed coherency and allowed for identification of the most stable genotypes and responses for the best location for each genotype as well as greatest yields and concentrations of protein, sucrose, raffinose and stachyose. The genotypes which stood out due to their wide adaptability according to the two utilized

methodologies in the present work were: for productivity, the VENCEDORA and MSOY 8001 varieties; for protein concentration, the ELITE variety, for sucrose concentration, the CS 01 736 line, for raffinose concentration, the CS 02 988 line and for stachyose concentration, the MSOY 8001 variety. Yield and protein concentration presented negative correlations, which showed that selection of one determined characteristic provoked a decline in the other. Correlation between yield and sucrose concentration was insignificant. The same behavior was observed between protein concentration and sucrose concentration and between protein concentration and stachyose concentration. The fact that these characteristics are not correlated facilitates the selection of a genotype with high sucrose concentration and high yields, or genotypes with high concentrations of sucrose and protein. The correlation between yield and raffinose concentration and between yield and stachyose concentration were both negative and significant. This negative correlation and significance facilitated the selection of genotypes with high yields and low concentrations of raffinose and stachyose. Sucrose concentration presented high and positive correlation coefficients with the concentrations of raffinose and stachyose, indicating the possibility of making a direct selection of individuals with high sucrose concentrations and low raffinose and stachyose concentrations. The second part of this study was performed using six soybean genotypes from Mineiros-GO. It was demonstrated that the methodology adapted to quantify thermostable antinutritional factors, such as soybean non-starch polysaccharides, using HPLC, showed excellent precision. No significant correlation was encountered between yield and NSP, vegetable oil and NSP, and protein and NSP between the six analyzed genotypes. The fact that these characteristics are not correlated facilitates genotype selection with the best nutritional quality, since it allows for diminishing the total NSP content, insoluble NSP and principally, soluble NSP, without affecting the yield and concentrations of oil and protein. The yield and oil concentration variables showed to be high and have positive correlation coefficients with the total carbohydrate concentrations and soluble sugars, indicating difficulty to make a direct selection of varieties with high yields or high oil concentrations and at the same time, low total carbohydrate and soluble sugar concentrations. Protein correlated negatively with total carbohydrate and soluble sugar concentrations. This result favored the selection of genotypes with high protein concentrations and lower total carbohydrate and soluble sugar concentrations.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Atualmente a soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é a oleaginosa mais cultivada no mundo e um dos mais importantes produtos agrícolas da economia brasileira. Sua enorme importância deve-se a facilidade de seu cultivo e a ampla aplicabilidade de seus subprodutos. A maioria dos cultivares de soja apresenta de 30 a 45% de proteínas, de 15 a 25% de óleo, de 20 a 35% de carboidratos e cerca de 5% de cinzas (MOREIRA, 1999).

Com uma área de 21,3 milhões de hectares na safra 2007/2008 o Brasil apresentou uma produção de aproximadamente 62 milhões de toneladas e produtividade de 2.809 Kg ha⁻¹, o que manteve o país como o segundo maior produtor e exportador de soja do mundo (CONAB, 2008).

A expansão da soja para as diversas regiões do Brasil mostra a capacidade da espécie de adaptação a uma ampla diversidade de ambientes, fotoperiodismo e solos. Uma das justificativas dessa grande expansão pode ser explicada, sem dúvida, pelo melhoramento genético, com o desenvolvimento de novas cultivares, principalmente as que apresentam período juvenil longo, cada vez mais adaptados as condições adversas e consequentemente, mais produtivas.

O interesse mundial pelo cultivo da soja deve-se à excelente combinação que ela apresenta entre produtividade, concentração de óleo e concentração de proteína (WOBUS *et al.* 2000). Portanto, o melhoramento genético da soja depende do entendimento dos fatores genéticos e fisiológicos que afetam tais caracteres. Os programas de melhoramento de soja têm se concentrado no desenvolvimento de variedades mais produtivas; mais recentemente, trabalhos que visam o desenvolvimento de cultivares de melhor qualidade nutricional têm se concentrado no aumento da concentração de proteínas, na alteração da composição da fração óleo e na diminuição de fatores antinutricionais das sementes.

Assim, o sucesso para implantação de uma lavoura depende, dentre outros fatores, da escolha da cultivar, considerando que existe diferença no desempenho de acordo com a região. A interação genótipos x ambientes (G x A) constitui-se num dos maiores problemas dos programas de melhoramento de qualquer espécie, seja na fase de seleção ou na de recomendação de cultivares. Entre as alternativas para se amenizar a influência dessa interação, tem sido recomendado o emprego de cultivares com ampla adaptabilidade e boa estabilidade. A adaptabilidade é a capacidade de os genótipos aproveitarem vantajosamente o estímulo do ambiente; a estabilidade é a capacidade de os genótipos mostrarem um comportamento altamente previsível em função do estímulo do ambiente (CRUZ & CARNEIRO, 2003).

A importância comercial e nutricional da soja para alimentação humana e animal é bem conhecida. Porém, junto com proteína e óleo alguns componentes indesejáveis também são encontrados nos grãos. Fatores antinutricionais como os inibidores de proteases (tripsina e quimiotripsina), lectina, polissacarídeos não-amídicos e oligossacarídeos de rafinose estão presentes em leguminosas, inclusive na soja. Por isso é importante determinar a composição bioquímica de diferentes genótipos de soja e estudar a interação desses genótipos com o ambiente para selecionar aqueles com alta produtividade, altas concentrações de proteína e óleo e baixo nível de fatores indesejáveis (TRUGO *et al.* 1995).

A ingestão de soja e de alguns derivados resulta principalmente em flatulência, náuseas, desconforto e diarreia. Os principais causadores desses sintomas são os açúcares rafinose e estaquiose (WAGNER *et al.* 1976). Pelo fato da capacidade da soja e de outras leguminosas causarem flatulência em humanos, os produtos derivados de soja têm sido descritos como indutores de problemas digestivos em animais (COON *et al.* 1990). Em sementes de soja madura, os açúcares solúveis constituem aproximadamente 10% do peso seco. Sacarose, estaquiose e rafinose constituem mais que 99% dos açúcares solúveis presentes.

A mucosa do intestino delgado de humanos e também de outros animais monogástricos, como aves e suínos, são desprovidos das α -1,6-galactosidases, enzimas necessárias à conversão dos oligossacarídeos de rafinose (RO) em açúcares mais simples. Consequentemente, 100% dos RO não são degradados e são então conduzidos ao intestino grosso onde bactérias anaeróbicas possuem os sistemas enzimáticos necessários para fermentação desses açúcares, o que resulta em liberação de grandes quantidades de CO₂, H₂ e CH₄ (STEGGERDA e DIMMICK, 1966; SUAREZ *et al.* 1999). Esta produção de gases é conhecida como flatulência intestinal que é resultante do metabolismo anaeróbico de α -1,6-galactosídeos de rafinose (RO) e está associada com cólicas, diarreia, dispepsia e constipação. Desta forma, os RO presentes na soja e outras leguminosas assumem papel restritivo quanto ao consumo destes grãos como fonte protéica.

Os polissacarídeos não-amídicos (PNAs) são considerados fatores anti-nutricionais na dieta de animais monogástricos, principalmente a porção solúvel desses carboidratos. A presença dos polissacarídeos não-amídicos solúveis no lúmen intestinal promove aumento da viscosidade do bolo alimentar devido à formação de polímeros ou géis com a água, comprometendo a digestão e a absorção dos nutrientes, pois, dificultam a ação das enzimas digestivas e a difusão das substâncias relacionadas com a digestão e absorção. O aumento da viscosidade no intestino afeta a digestibilidade do amido, da proteína e dos lipídeos. As

gorduras têm sua digestibilidade diminuída por uma menor emulsificação resultante do aumento na viscosidade intestinal

Portanto, a identificação de genótipos de soja que apresentem ampla adaptabilidade e estabilidade nos ambientes, associados com maior produtividade, altas concentrações de proteína e óleo e menor concentração de fatores antinutricionais é de grande importância, visando seu uso imediato na alimentação humana e de animais monogástricos e como genitores em programas de melhoramento. Também é de interesse a seleção de genótipos de soja com alta concentração de sacarose e com baixas concentrações de rafinose e estaquiose por serem mais adequados para utilização na alimentação humana.

2. OBJETIVOS GERAIS

- Estudar o efeito da interação genótipo vs ambiente em relação à produtividade e as concentrações de proteína, sacarose, rafinose e estaquiose;
- Adaptar uma metodologia para a determinação de polissacarídeos não-amídicos PNAs em grãos de soja;
- Estimar as correlações entre produtividade e componentes bioquímicos em grãos de soja;
- Selecionar genótipos de soja, os quais poderão ser utilizados em programas que visam aumentar a qualidade nutricional do grão de soja, visando o uso na alimentação humana e de animais monogástricos.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Importância econômica da soja no Brasil

A soja é a mais importante leguminosa cultivada no mundo, sendo amplamente cultivada em vários países. Atualmente, os principais países produtores são os Estados Unidos, o Brasil, a Argentina e a China. O Brasil destaca-se como o segundo maior produtor mundial e o maior exportador de soja. A produção brasileira de soja no ano agrícola 2007/2008 foi de 58,726 milhões de toneladas em uma área de 21,2 milhões de hectares, com uma produtividade média próxima a 3.000 Kg ha⁻¹ (Figura 1).

A soja é uma das principais fontes de proteína e óleo, sendo responsável por cerca de 60% do suprimento de proteína de origem vegetal e 25% do óleo do mundo. No Brasil, a soja é responsável por fornecer aproximadamente 94% do farelo protéico e 90% dos óleos vegetais aqui consumidos. Destacam-se como os principais estados produtores o Mato Grosso, Paraná, Rio Grande do Sul e Goiás, respectivamente (EMBRAPA, 2007).

A soja é o principal *commodity* agrícola do Brasil. O complexo soja, em 2007, exportou aproximadamente 23,8 milhões de toneladas de grãos, 12,9 milhões de toneladas de farelo e 2,5 milhões de toneladas de óleo gerando em torno de 10,18 bilhões de dólares (CONAB, 2008). Com isso, a cadeia da soja destaca-se, tanto pela sua expressiva participação nas exportações sob a forma de farelo, óleo e grãos, como também para o suprimento do mercado interno de óleos comestíveis e derivados protéicos.

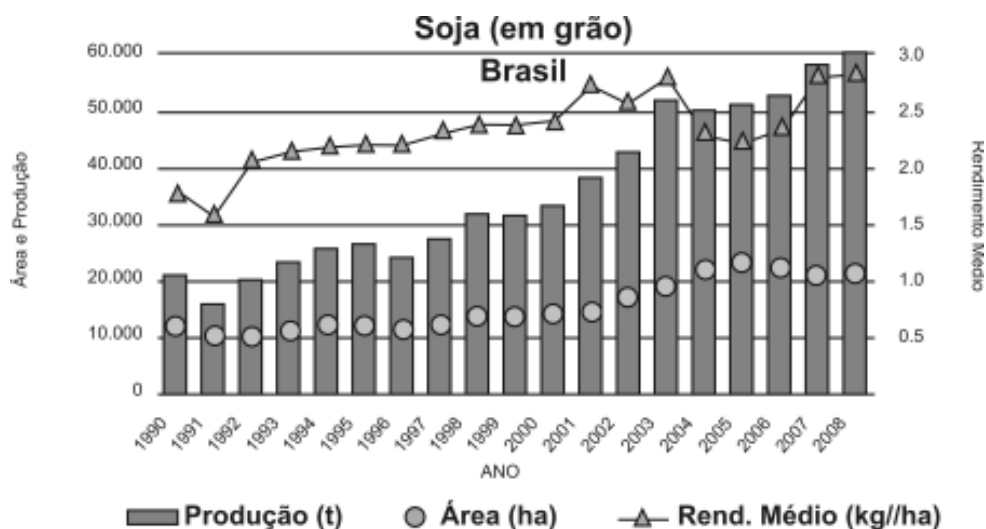


Figura 1 - Evolução da soja no Brasil (Fonte: CONAB 2008)

3.2. A soja como fonte de alimento

A soja é considerada um alimento funcional porque além de funções nutricionais básicas, produz efeitos benéficos à saúde, reduzindo riscos de algumas doenças crônicas e degenerativas. É rica em proteínas de boa qualidade, possui ácidos graxos poliinsaturados e compostos fitoquímicos como: isoflavonas, saponinas, dentre outros. Também é uma excelente fonte de minerais como cobre, ferro, fósforo, potássio, manganês, magnésio e vitamina do complexo B (EMBRAPA, 2007).

Devido ao seu alto valor nutricional a soja é mundialmente cultivada. Principalmente as indústrias alimentícias têm explorado comercialmente o potencial energético-protéico da soja, estimulando assim sua produção em larga escala. A soja possui uma fração protéica altamente significativa que é utilizada na fabricação de ração para a alimentação animal. A forma pela qual a soja é mais utilizada na alimentação animal é como farelo, que é resultante da extração de óleo, o qual também é largamente empregado pelas indústrias de ração.

Atualmente as proteínas de soja vêm sendo utilizadas como componente essencial na dieta humana. Sua qualidade nutricional depende da quantidade, digestibilidade, absorção e utilização dos aminoácidos. A soja pode substituir a carne, como base protéica na alimentação. Seus benefícios alimentares são grandes, e dessa forma auxiliam na

formação de uma dieta vegetariana, que é mais saudável, uma vez que vegetarianos geralmente sofrem menos de problemas cardiovasculares que não vegetarianos.

A fração protéica tem sido utilizada também para a alimentação humana, tanto como extrato hidrossolúvel de soja, quanto na composição de outros alimentos. Os derivados protéicos da soja se enquadram em três produtos alimentícios básicos: farinhas, com cerca de 50% de proteínas; concentrados protéicos, com 70% de proteína e isolados protéicos de soja com 90-97% de proteína. Estes produtos básicos podem ser processados em produtos texturizados de soja, sendo utilizados em panificadoras como clarificadores de farinhas e agentes de melhoria das características de panificação e conservação (MOREIRA, 1999).

NAKASATHIEN *et al.* (2000) mencionam que o aumento da concentração de proteína nem sempre é vantajoso, uma vez que diminui a qualidade da proteína, por diminuir a proporção de aminoácidos sulfurados. Na soja, a proporção é naturalmente baixa, comparada a outras fontes protéicas, o que exige a complementação nutricional da soja tanto para alimentação animal como humana.

Outra importante característica presente na composição bromatológica da soja é o óleo, o qual é destinado principalmente ao consumo humano (LIMA, 1999), sendo utilizada na indústria de alimentos para a produção de margarina, óleo de cozinha, agentes emulsificantes e vários outros produtos. Subprodutos de ambas as frações apresentam ainda diversas utilidades na indústria química e farmacêutica. Apesar da diversidade de utilização da soja, aproximadamente 83 % da produção mundial é utilizada para a extração de óleo, destinado principalmente ao consumo humano, e o farelo resultante é destinado à fabricação de ração animal (LIMA, 1999).

Entretanto, o grão de soja apresenta em sua composição, constituintes que interferem na utilização destas proteínas e de outras substâncias. Estes constituintes são denominados de fatores antinutricionais e podem interferir na disponibilidade de nutrientes, resultando em inibição de crescimento, hipoglicemia, flatulência ou danos a tecidos como pâncreas ou fígado (FRANCIS *et al.* 2001; ANDERSON *et al.* 1999)

Para melhorar a qualidade nutricional da soja e utilizá-la como fonte de alimento, há necessidade de remover ou inativar esses constituintes indesejáveis. Uma alternativa seria a criação de cultivares com melhor qualidade nutricional a partir de métodos clássicos de seleção. Porém, nem sempre essa técnica é eficiente, pois muitos desses fatores podem estar indesejavelmente correlacionados, o que dificulta a seleção de genótipos com maior valor nutricional. Por isso, torna-se importante caracterizar a composição bioquímica da semente de soja, de modo que facilite o estudo de como esses caracteres possam estar

correlacionados e assim adotar estratégias de seleção adequadas para a obtenção de variedades com maior qualidade nutricional.

3.3. Fatores antinutricionais da soja

3.3.1. Inibidores de tripsina e quimotripsina (Kunitz e Bowman-Birk)

Os inibidores de proteases são peptídeos capazes de se complexarem com as enzimas proteolíticas pancreáticas, tornando-as inativas. Estão classificados em treze famílias, sendo seis derivadas de plantas e destas apenas duas apresentam importância na produção animal. Eles são essencialmente competitivos e o complexo inibidor-enzima formado não possui atividade enzimática para qualquer que seja o substrato (NUNES *et al.* 2001). Os inibidores de proteases de soja são constituídos pelo inibidor de tripsina “Kunitz” e pelo inibidor de tripsina e quimotripsina “Bowman-Birk”. Cerca de 80% da inibição da atividade triptica de grãos de soja é causada pela ação do inibidor de tripsina “Kunitz”. Estes antinutrientes apresentam especificidade de inibir as enzimas proteolíticas e, conseqüentemente, reduzem a digestão protéica de alimentos, proporcionando diminuição no ganho de peso e crescimento dos animais (MONTEIRO *et al.* 2004). Quando os animais monogástricos ingerem a soja crua, os fatores antitripticos se complexam com a tripsina e a quimotripsina secretada pelo pâncreas, impedindo a ação proteolítica dessas enzimas. Para tentar reverter essa diminuição da ação das enzimas proteolíticas, o pâncreas secreta mais enzimas, que por sua vez, são novamente inibidas, gerando uma sobrecarga pancreática, e conseqüentemente, uma hipertrofia desse órgão, reduzindo a ação digestiva em todo alimento presente na luz intestinal e, por conseguinte, prejudicando o desempenho desses animais.

3.3.2. Lectinas

As lectinas são proteínas que possuem em suas moléculas um domínio de ligação específico à combinação com carboidratos, e, portanto, capazes de aglutinarem os eritrócitos, e interagirem com as células da mucosa intestinal, prejudicando o processo de absorção de nutrientes, causando ruptura de membranas e degradação de microvilos, com conseqüente lesão epitelial (LIENER, 1986 e KAKADE, 1972). “In vitro” as lectinas possuem a capacidade de aglutinar hemácias, devido a essa propriedade, essa substância ficou assim conhecida. “In vivo” as lectinas se ligam às células da mucosa intestinal

causando lesões e conseqüente redução na absorção dos nutrientes (BATAGLIA, 1990). As alterações da função fisiológica causada por lectinas no intestino são produtos de sua estabilidade aos processos digestivos e da especificidade pelas células da mucosa intestinal em diferentes regiões. Contudo, não há evidências de que as lectinas presentes nos alimentos apropriadamente processados possam ser tóxicas (CAFÉ, 1996).

3.3.3. Polissacarídeos não-amídicos

A alimentação de animais monogástricos representa 75% do custo total de produção. Os grãos de cereais constituem os principais componentes das dietas e apresentam como característica um alto valor energético, principalmente em face de um elevado teor de amido (ANDRIGUETO *et al.* 2002).

Entretanto, os cereais e as leguminosas apresentam além da porção amídica, carboidratos denominados polissacarídeos não-amídicos (PNAs), que apresentam função quase que exclusivamente estrutural nas plantas (CHOCT, 1997) e existem em varias formas na natureza.

Os PNAs, principais constituintes da parede celular dos vegetais, são polímeros de açúcar que não podem ser digeridos pelos animais não ruminantes, devido a natureza química de suas ligações, sendo resistente a hidrólise no trato digestivo (ROSA & UTTPATEL, 2007). São componentes de alto peso molecular presentes nos alimentos (GRUPPEN, 1996) e podem compreender mais de 90% da parede celular das plantas (SELVENDRAN & ROBERSON, 1990).

A composição dos polissacarídeos, a natureza das ligações entre os monossacarídeos, solubilidade, as características físico-químicas e o peso molecular, afetam as suas propriedades, assim como o requerimento de enzimas para hidrolisá-los (CLASSEN, 1996).

Polissacarídeos consistem em polímero de monossacarídeos ou açúcares simples unidos por ligação específica chamada ligação glicosídica, que é formada entre o grupo hemiacetal de um açúcar e o grupo hidroxila do outro, e são classificados segundo considerações estruturais e propriedades físico-químicas (MOURINHO, 2006).

Polissacarídeos não-amídicos (beta-glucanos e arabinoxilanos), e oligossacarídeos (rafinose e estaquiose, no caso das plantas oleaginosas), não são digeridos pelas enzimas endógenas das aves. Estes compostos não causam sintomas de toxicidade, mas apresentam

propriedades anti-nutritivas que podem afetar o desempenho dos animais (LEESON e SUMMERS, 2001).

As enzimas endógenas produzidas pelas aves, com função de hidrolisar os carboidratos, são específicas para atuarem sobre a ligação alfa, não sendo ativas para carboidratos com ligação beta e oligossacarídeos que contêm galactose (CANTOR, 1995).

Segundo CHOCT e KOCHER (2000) a classificação dos PNAs recai em três grandes grupos, descritos na Figura 2: Celulose, polímeros não celulósicos (pentosanos, arabinosilanos, xilanos, β -glucanos) e polissacarídeos pécticos (glicomananos, galactomananos, arabinanos, xiloglucanos e galactanos), entre outras moléculas (BELLAYER e SNIZEK, 1999).

A solubilidade dos polissacarídeos não-amídicos não é determinada somente pela sua estrutura primária, mas também depende de como são ligados a outros componentes da parede celular (SMITS & ANNISON, 1996). Os autores explicam que as paredes celulares das plantas são altamente organizadas. Seus componentes podem ser arranjados em uma estrutura de polissacarídeo fibrilar (principalmente celulose), matriz de polissacarídeos (principalmente a hemicelulose e pectina) e substâncias incrustadas (principalmente a lignina).

Dependendo da solubilidade dos seus constituintes, os (PNAs) são classificados em solúveis e insolúveis. Os PNAs insolúveis são as celulosas e algumas hemiceluloses. Enquanto que os PNAs solúveis são compostos por pectinas e principalmente pela hemicelulose. A hemicelulose por sua vez constituída por β -Glucanos, D-xilanos, D-mananos e xiloglucanos, entre outros. Os β -glucanos e as pentosanas solubilizados parecem atuar como uma barreira da difusão dos nutrientes, limitando a taxa de absorção. Aos β -glucanos é que são atribuídos os problemas de fezes mais líquidas, conforme referido anteriormente (SMITS & ANNISON, 1996).

As propriedades antinutricionais dos PNAs está principalmente na fração solúvel. Em especial os PNAs solúveis são capazes de se ligarem a grande quantidade de água, aumentando, dessa forma, a viscosidade do fluido (ROSA & UTTAPATEL, 2007), interferindo na difusão dos nutrientes e das enzimas digestivas e suas interações com a mucosa intestinal. Porém, outros efeitos como o aumento ou diminuição da taxa de transito do alimento e interação com a microflora bacteriana podem ocorrer (CHOT, 2002).

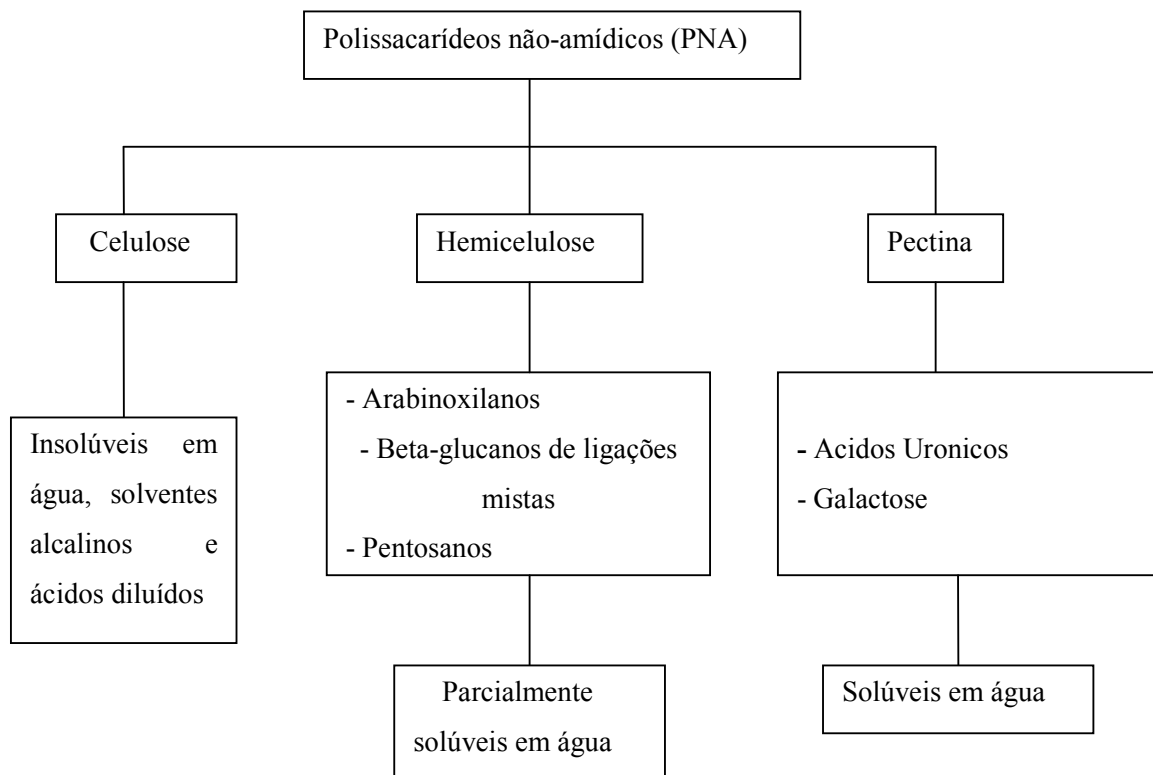


Figura 2 - Classificação dos Polissacarídeos Não-Amídicos (PNA's), (adaptado de CHOT & KOCHER, 2000)

A presença dos oligossacarídeos e dos polissacarídeos não-amídicos solúveis no lúmen intestinal promove aumento da viscosidade do bolo alimentar devido à formação de polímeros ou géis com a água, comprometendo a digestão e a absorção dos nutrientes, pois, dificultam a ação das enzimas digestivas e a difusão das substâncias relacionadas com a digestão e absorção. O aumento da viscosidade no intestino afeta a digestibilidade do amido, da proteína e dos lipídeos. As gorduras têm sua digestibilidade diminuída por uma menor emulsificação resultante do aumento na viscosidade intestinal. Este também favorece o crescimento da microflora indesejável com desconjugação dos sais biliares. Estes efeitos citados sobre a digestão das gorduras diminuem a absorção de vitaminas lipossolúveis. As gorduras saturadas são aquelas mais intensamente afetadas pela diminuição na emulsificação. Em aves jovens, o tempo requerido para o alimento passar pelo trato digestivo é aumentado, o que acaba reduzindo o consumo. A maior população de microrganismos passa a competir com o hospedeiro pelos nutrientes presentes no lúmen, além de produzir toxinas que constituem outro efeito indesejável do aumento da microflora (NUNES, 2001).

3.3.3.1. Polissacarídeos não-amídicos insolúveis

Segundo MOURINHO (2006) elevados níveis de PNAs insolúveis na dieta conduzem a uma diminuição da digestibilidade dos nutrientes por reduzirem o tempo de permanência do bolo alimentar.

Entre eles, destaca-se a celulose, que é o principal constituinte da parede celular das plantas e abundante nos vegetais fibrosos. Para não ruminantes, apresenta baixa digestibilidade, podendo reduzir a digestibilidade de outros nutrientes (ANDRIGUETO, 2002).

Apesar dos PNAs insolúveis aumentarem o volume de fibra total na dieta, eles apresentam pouco efeito sobre a utilização de nutrientes em animais monogástricos.

A capacidade de formação de redes em solução aquosa e a capacidade de retenção de água dos polissacarídeos não-amídicos solúveis é alta em relação aos polissacarídeos não-amídicos insolúveis. Isto explica porque fibras insolúveis como a celulose e xilanos podem reter água, comportando-se como esponjas, mas a sua viscosidade é relativamente baixa.

3.3.3.2. Polissacarídeos não-amídicos solúveis

PNAs solúveis atuam como barreiras físicas a digestão e absorção de nutrientes por interagirem com o glicocálix da borda de escova intestinal, tornando espessa a camada de água na mucosa, dessa forma, aumentando a viscosidade do bolo alimentar (MOURINHO, 2006).

Muitos polissacarídeos, quando dissolvidos em água, tornam a solução viscosa. Esta viscosidade depende de muitos fatores, incluindo o tamanho da molécula, tipo de cadeia (ramificada ou linear), da presença de grupos carregados, estruturas que cercam e, principalmente a sua concentração (SMITS & ANNISON, 1996).

O aumento na viscosidade pode causar vários problemas no intestino delgado, principalmente, devido ao fato dos nutrientes tornarem menos disponíveis para a digestão, resultando em uma depleção a digestão de gorduras, proteínas, carboidratos e outros micronutrientes (CONTE *et al.* 2002). Além disso, WYATT *et al.* (2004) cita que o aumento da viscosidade contribui para o desenvolvimento de doenças intestinais, com Coccidiose e Enterite Necrótica.

3.3.4. Celulose, Hemicelulose e Pectina

Celulose: É um homopolímero de moléculas de glicose unidas por ligações β (1-4). As moléculas de celulose paralelas e adjacentes estão interligadas, por meio de pontes de hidrogênio formando microfibrilas muito resistente. As fibras de celulose são formadas por regiões cristalinas e amorfas. A porção hidrolisável por enzimas é chamada de região amorfa e a porção resistente constitui a porção cristalina. A celulose nativa difere em sua cristalinidade quanto a localização na parede celular: a camada secundária contém celulose altamente cristalina, enquanto a camada primária contém principalmente celulose amorfa (Da SILVA *et al.* 1997).

Hemicelulose: PALENZUELA *et al.* (1998) cita o nome “hemicelulose” como um termo vago, por englobar um conjunto heterogêneo de polissacarídeos, cuja composição varia muito de uma espécie para outra. Inicialmente o nome hemicelulose foi proposto para designar os polissacarídeos extraídos de plantas com solução alcalina.

Compreendem um grupo muito heterogêneo de polissacarídeos ramificados que se ligam firmemente à superfície das microfibrilas de celulose e entre si, cobrindo as microfibrilas e mantendo ligações cruzadas, via pontes de hidrogênio, em uma rede complexa, impedindo assim que elas se toquem, dando elasticidade e consistência a parede celular.

A extração da hemicelulose das paredes celulares ocorre por soluções alcalinas fortes devido à existência de pontes de hidrogênio entre a hemicelulose e as microfibrilas de celulose. Uma vez extraída da parede celular a hemicelulose passa a ser solúvel em água (PALENZUELA *et al.* 1998).

A hemicelulose é composta por hexoses (glicose, galactose, manose, etc), pentoses (arabinose e xilose) e ácidos urônicos (ácido glicurônico), que podem ser lineares ou ramificados.

Quimicamente, os polímeros das hemiceluloses são heteropolissacarídeos formados por vários resíduos de açúcares como D-xilose, D-manose, D-arabinose e D-galactose, dentre outros e por seus ácidos urônicos. Estes açúcares estão ligados entre si por ligações glicosídicas β (1-4) formando uma estrutura principal composta por um tipo específico de resíduos, (xilanos, galactanos e mananos), a partir das quais surgem ramificação lateral, com resíduos de arabinose e galactose. Assim, têm-se os seguintes polissacarídeos: xilanas, galactomananas, arabinoxilanas, galactosanas, ramnogalactosanas, etc. (FERREIRA-

FILHO, 1994). A xilana é o principal componente das hemiceluloses (Da SILVA *et al.* 1997).

A cadeia principal da hemicelulose das gramíneas é composta de xilanas (β -1,4-xilose-xilose) e cadeia lateral de ácido metilglucorônico, a das leguminosas de xilanas não ramificadas (TARVENARI, 2008).

- A seguir são descritos os principais polissacarídeos constituintes da hemicelulose (TARVENARI, 2008).

- Pentosanos (arabinoxilanos): São formados por cadeias por cadeias de xilose com ligação β (1-4) e cadeia lateral de arabinose com ligações β (1-3). As ramificações lhe conferem solubilidade. É o principal polissacarídeo não amiláceo solúvel em centeio, trigo e farelo de arroz.

- β -Glucanos: São polímeros lineares de glicose com ligações β (1-4) e β (1-3), que rompem a linearidade da molécula, impedindo a formação de fibrilas. A cevada e aveia possuem grande quantidade de β -glucanos.

- D-Mananos: São polímeros formados por manose em ligações β (1-4). Os galactomananos são polímeros formados por glicose e manose, em ligações β (1-4), sendo duas glicose para uma de manose.

- Xiloglucanos: São formados por glicose com ligações β (1-4) e cadeia lateral de xilose com ligação β (1-3).

Polissacarídeos pécticos: As pectinas são formadas principalmente pelo ácido D-galacturônico (derivado da galactose), interligado principalmente por ligações α (1-4). As ramificações laterais são diversas e contêm arabinose, galactose e na maior parte ramnose. Os números de grupos carboxílicos livres variam assim como grau de esterificação (THAKUR *et al.* 1997).

É uma molécula com alta capacidade de formar gel em determinadas circunstâncias (PALENZUELA *et al.* 1998). Suas ramificações servem para aprisionar água em redor, tornando o meio mais gelificado.

As pectinas são substâncias abundantes nos vegetais, sendo componente essencial das paredes celulares de plantas, porção insolúvel, ou ainda no citosol de células vegetais,

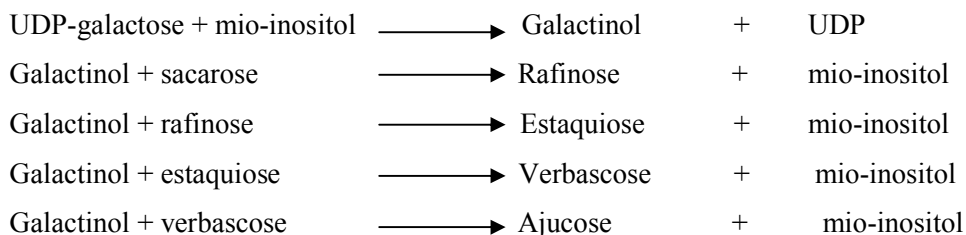
porção solúvel, sendo essa encontrada em maiores proporções. Pode ser encontrada em fontes cítricas e em grãos de leguminosa como a soja e feijão.

As pectinas são as principais componentes da lamela média e um dos principais polímeros da parede celular vegetal. Os polissacarídeos pécticos são ricos em ácido galacturônico, ramnose, arabinose e galactose. As substâncias pécticas são formadas por duas frações interligadas: a ramnogalacturona e a homogalacturona (THAKUR *et al.* 1997). A primeira é um heteropolímero que tem a estrutura principal formada por repetidas unidades de ácido galacturônico ligado a ramnose e cadeias laterais consistindo de arabinose e galactose que não interagem com Ca^{++} . Por outro lado, a homogalacturona é um homopolímero formado por ligações glicosídicas β (1-4). A pectina aumenta a viscosidade do meio e a possibilidade de formar gel com a água, devido á sua capacidade de ligar a Ca^{++} . A pectina apresenta grande importância tecnológica (Da SILVA *et al.* 1997).

3.3.5. Biossíntese e papel fisiológico dos oligossacarídeos de rafinose

Os oligossacarídeos são fontes primárias de energia e substratos para a síntese de outros compostos durante a germinação da semente de leguminosa (JIMÉNEZ *et al.* 1985). Entre estes, os oligossacarídeos de rafinose (RO) são amplamente encontrados no reino vegetal em sementes de varias espécies, nas quais são componentes dos carboidratos de reserva, sendo os segundos carboidratos solúveis mais abundantes nas plantas (MINORSKY, 2003).

Os RO são sintetizados durante a formação das sementes, e hidrolisados durante o processo de germinação (KANDLER e HOLF, 1980; SARAVITZ *et al.*, 1987). De acordo com DEY (1985), a via metabólica de síntese dos RO pode ser representada como se segue:



Como apresentado na Figura 4 a enzima galactinol sintase (GS) (UDP- α -D-gal:1-L-mio-inositol-1-O- α -D-galactopiranosiltransferase, E.C. 2.4.1.123), que requer Mn⁺² para sua atividade, catalisa a primeira reação na via de síntese dos RO, produzindo galactinol a partir de UDP-galactose e mio-inositol (LIU *et al.* 1995). A atividade de GS, em folhas e sementes, correlaciona-se positivamente com os níveis de RO e esta enzima parece regular os níveis de oligossacarídeos de reserva em partes específicas das plantas (CASTILLO *et al.* 1990). Subseqüente à primeira reação, sintases específicas catalisam a síntese de cada oligossacarídeo da série por meio da transferência do galactinol para a sacarose, a rafinose, a estaquiose e a verbascose, com a produção de α -1,6-galactosídeos, tri, tetra, penta e hexassacarídeos de rafinose (RIBEIRO, 2001).

Durante o desenvolvimento da planta a rafinose acumula-se nos órgãos de reserva. Ocorre um aumento na concentração de rafinose nas sementes em maturação devido à perda de água durante este processo (DEY, 1985). Este açúcar por sua vez é degradado em galactose e sacarose durante a germinação. A estaquiose é um dos mais abundantes tetrassacarídeos em plantas (DEY, 1985) e é reconhecida como o maior açúcar de reserva e transporte em leguminosas. Verbascose e ajucose são os penta e hexassacarídeos, respectivamente. Estes oligossacarídeos coexistem com rafinose e estaquiose na maioria das leguminosas e estão presentes em órgãos de reserva (DEY, 1985).

Os RO têm importantes funções nas plantas servindo como metabólitos de transporte em muitas leguminosas e desempenhando papel protetor contra o frio. Além disso, conferem tolerância à dessecação durante a maturação da semente, sendo que estas respostas a estresses são ocasionadas pelo resultado da ação dos RO como agentes protetores das proteínas de membrana (JONES *et al.* 1999).

3.3.6. Ocorrência e distribuição dos oligossacarídeos de rafinose em plantas

Os RO ocorrem no embrião e cotilédones de sementes de leguminosas e são quebrados durante a germinação, resultando no acúmulo temporário de galactose e sacarose nesses tecidos (DEY, 1980; SARAVITZ *et al.* 1987). Os ROs são o segundo tipo de carboidrato solúvel mais abundante nas plantas, após a sacarose.

Eles são sintetizados e depositados nos órgãos de armazenamento, como as sementes, durante o processo de maturação e são mobilizados durante os primeiros estádios da germinação (DEY, 1990).

Uma vez que existe variação entre cultivares de soja quanto ao conteúdo de ROs, para sua redução em sementes de soja seria necessária a identificação de variedades que

apresentassem sementes com baixos conteúdos de oligossacarídeos e retrocruzamento entre os tipos parentais. WILCOX e SHIBLES (2001) estudando as correlações entre proteína e oligossacarídeos, concluíram que devido à existência de uma correlação negativa entre o conteúdo de proteína e os conteúdos de rafinose + estaquiose na semente de soja, facilita desenvolver uma linha no germoplasma com alto conteúdo de proteína e que apresente baixos conteúdos de rafinose e estaquiose.

Com o objetivo de obter sementes de soja com baixo teor de oligossacarídeos para uso na alimentação humana, SUAREZ *et al.* (1999) analisaram um grande número de sementes quanto à atividade das enzimas rafinose sintase e estaquiose sintase, que catalisam as etapas finais da síntese de rafinose e estaquiose, respectivamente. Esses estudos resultaram na identificação de sementes com atividade muito baixa para essas enzimas, as quais apresentam também baixa concentração de rafinose e estaquiose quando comparadas com sementes convencionais.

3.3.7. Implicações nutricionais dos oligossacarídeos de rafinose

Os ROs são indigeríveis pelos mamíferos e podem causar flatulência em humanos. A hidrólise destes oligossacarídeos requer a ação da enzima α -galactosidase, que hidrolisa um α -galactosídeo e esta enzima não está presente no trato intestinal humano (GITZELMANN e AURICCHIO, 1965).

A ingestão de soja e derivados resulta no aparecimento de sintomas desagradáveis, o que limita o seu consumo. Dentre os sintomas desagradáveis, destaca-se a flatulência (De LUMEN, 1992), que é resultante do metabolismo anaeróbico de α -1,6-galactosídeos de rafinose (ROs: oligossacarídeos de rafinose) presentes nos grãos das leguminosas em geral (PRICE *et al.* 1988). A mucosa do intestino humano e de outros animais monogástricos, como aves e suínos, é desprovida das enzimas α -1,6-galactosidases, que são necessárias à conversão dos ROs em açúcares mais simples. Conseqüentemente, os ROs não hidrolisados são conduzidos à parte posterior do intestino, onde são fermentados anaerobicamente a CO₂, H₂ e CH₄ pela microflora (PRICE *et al.* 1988). Desta forma, os ROs presentes na soja e outras leguminosas assumem papel restritivo quanto ao consumo destes grãos como fonte protéica.

3.4. Correlações

Um aspecto genético de grande valor para o melhoramento de plantas, que deve receber atenção dos melhoristas, é a estimativa das correlações entre caracteres, pois esta reflete o grau de associação entre esses caracteres. O seu conhecimento é importante porque mostra como a seleção para um caráter influencia a expressão de outros caracteres. Nos programas de melhoramento, geralmente, além de se visar o aprimoramento de um caráter principal busca-se também manter ou melhorar a expressão de outros caracteres.

Genótipos de soja com elevadas produtividades e adaptabilidade a vários ambientes são objetivo dos programas de melhoramento (CARPENTIERI - PÍPOLO *et al.* 2005). Geralmente, além de ter como objetivo o aprimoramento de um caráter principal, busca-se também manter e melhorar a expressão de outros caracteres simultaneamente (LOPES *et al.* 2002; CARPENTIERI - PÍPOLO *et al.* 2005).

Correlação é a medida do grau ou da intensidade de associação linear entre duas variáveis, permitindo ao melhorista conhecer as mudanças que ocorrem em determinado caráter em função da seleção praticada em outro caráter correlacionado (STEEL e TORRIE, 1980; LOPES *et al.* 2002).

Conforme FALCONER (1987) podem ser duas as causas de correlação entre duas variáveis. A primeira é genética, cuja principal causa é o pleiotropismo, que é a propriedade pela qual um mesmo gene afeta duas ou mais características, de modo que, se o gene estiver segregando, causará variação simultânea nas características que ele afeta. A segunda é ambiental, o ambiente torna-se causa de correlação quando dois caracteres são influenciados pelas mesmas diferenças de condições ambientais.

Alguns genes podem aumentar ambas as características, enquanto outros aumentam uma e reduzem outras, sendo que os primeiros tendem a causar uma correlação positiva, e os últimos uma correlação negativa (FALCONER, 1987).

Segundo PIOVESAN (2008) a melhoria do potencial produtivo das cultivares de soja é o principal objetivo de todos os programas de melhoramento genético conduzidos no país. No entanto em alguns programas de melhoramento, o aumento do teor de proteína nos grãos vem também sendo privilegiado. Contudo, o rendimento de grãos de soja, em geral, pode estar negativamente correlacionado com o teor de proteína, dependendo do tipo de cruzamento. Além disso, os teores de proteína e de óleo sempre estão inversamente correlacionados. É de interesse desses programas que as novas variedades a serem lançadas possuam uma máxima produtividade com um adequado balanço dos teores de óleo e proteína de acordo com as exigências do mercado.

ANAND e TORRIE (1963), SHIMOYA (1987), MORO *et al.* (1992), CECON *et al.* (1993), MONTENEGRO (1994), PELÚZIO *et al.* (1998) e LOPES *et al.* (2002), trabalhando com a cultura da soja, concluíram que, na grande maioria dos casos, as correlações genotípicas são mais elevadas do que as fenotípicas e de ambiente, indicando menor influência do ambiente na expressão dos caracteres.

HOLBROOK *et al.* (1989) avaliaram a utilização de índices de seleção para aumento de produção com a manutenção do teor de proteína na semente e apesar da freqüente correlação negativa entre estes dois caracteres, obtiveram aumentos significativos na produção sem alteração no teor de proteína por meio da utilização de índices de seleção restrito.

WILCOX e CAVINS (1995) estudando correlações entre teor de proteína e produção de grãos, por meio de uma série crescente de retrocruzamentos, entre dois progenitores contrastantes para estas duas características. Verificaram uma correlação negativa decrescente entre teor de proteína e produção de grãos, à medida que se avançaram os retrocruzamentos, obtendo ao final do 3º retrocruzamento linhagens produtivas e com alto teor de proteína.

HYMOWITZ *et al.*, (1972) analisaram os teores de óleo, proteína, açúcares totais, sacarose, rafinose e estaquiose em 60 linhagens de um germoplasma de soja as quais cobriam praticamente toda a faixa de conteúdo de óleo e proteína existente na cultura. Uma análise de correlação simples mostrou que o teor de açúcares totais estava positivamente correlacionado com o teor de óleo e que ambos apresentam correlação negativa com o teor de proteína. Os teores de sacarose e rafinose apresentaram correlação positiva com o teor de óleo enquanto o teor de estaquiose mostrou-se positivamente correlacionado com o teor de proteína.

HARTWIG *et al.* (1997) analisaram os teores de óleo, proteína, sacarose, rafinose e estaquiose em 20 cultivares comerciais de soja contendo alto teor de óleo e em 20 linhagens contendo alto teor de proteína. Os coeficientes de correlação entre os teores de rafinose + estaquiose com o teor de proteína ($r = -0,16$) e óleo ($r = -0,03$) foram não significativos. Em contraste, os autores encontraram uma relação significativa e inversa entre os teores de sacarose e proteína ($r = -0,78^{**}$) e positiva entre os teores de sacarose e óleo ($r = 0,67^{**}$).

Analisando os caracteres produtividade e os teores de proteína, óleo, rafinose, estaquiose, sacarose e enxofre em 43 linhagens derivadas de uma população melhorada, WILCOX e SHIBLES (2001) mostraram que o aumento no teor de proteína ocorreu à custa do teor de óleo, carboidratos totais e sacarose com coeficientes de correlação de $-0,98$, $-0,71$ e $-0,66$, respectivamente. Estes autores concluíram que a diminuição no teor

de carboidratos com o aumento do teor de proteína deve contribuir para um aumento do valor nutricional do farelo obtido das linhagens melhoradas.

3.5. Interação genótipo x ambiente

Segundo BORÉM e MIRANDA (2005), condições edafoclimáticas associadas às práticas culturais e outras variáveis que afetam o desenvolvimento das plantas são denominadas de ambiente.

ALLARD e BRADSHAW (1964) classificaram as oscilações ambientais em previsíveis e imprevisíveis. Como características previsíveis, destacam-se fotoperíodo, tipo e fertilidade do solo, épocas de plantio e práticas agrícolas. Como características imprevisíveis, estão incluídas distribuição pluviométrica, doenças e pragas, umidade, temperaturas e outras mais difíceis de ser controladas. Contudo, com o conhecimento prévio da região, algumas medidas podem ser tomadas para aproveitar o potencial de produção do local, já que durante o ano as condições ambientais podem ser bem variáveis de acordo com a área utilizada.

Ao iniciar um programa de melhoramento, deve-se definir se o objetivo é o desenvolvimento de cultivares adaptadas a um amplo espectro de ambientes ou de cultivares altamente adaptadas a ambientes específicos (FINLAY e WILKINSON, 1963; EBERHART e RUSSELL, 1966; BORÉM e MIRANDA, 2005).

O estudo dos ambientes é de grande importância, pois fornece informações sobre os padrões de respostas das cultivares, de modo a conhecer o grau de representatividade dos locais e tomar decisões quanto à desistência, ou não, da instalação de ensaios em determinado local, em razão de problemas técnicos ou de escassez de recursos (CARNEIRO, 1998; CRUZ *et al.* 2004).

Quando genótipos são testados em vários locais e anos, normalmente o seu comportamento não é constante nos diferentes ambientes. Essa inconsistência no comportamento das cultivares frente às variações ambientais gera interação de genótipos e ambientes, que, quando significativa, pode indicar a existência de genótipos particulares para determinados ambientes e, possivelmente, genótipos menos influenciáveis pelas variações ambientais (EBERHART e RUSSELL, 1966).

De acordo com FUNNAH e MAK (1980), quando a interação genótipo x ambiente é significativa, as cultivares selecionadas durante o procedimento do teste são específicas para o local de experimentação a que foram submetidas à análise. Então, em outra região, serão necessárias novas avaliações para conhecer a adaptabilidade das cultivares superiores

nesta área. Assim, o melhoramento deve minimizar o efeito do ambiente na expressão genética de materiais superiores para conseguir cultivares com maior adaptabilidade de cultivo.

Segundo EBERHART e RUSSELL (1966), com a finalidade de minimizar o efeito da interação genótipo x ambiente, a área a ser usada para a obtenção de novos genótipos deve ser estratificada em sub-regiões mais homogêneas, para controlar alterações envolvendo gradiente de temperatura, tipos de solo e distribuição das precipitações pluviométricas. Segundo TAI (1971) a eficiência desse procedimento é baixa, já que ocorrem ainda interações significativas de genótipo x ambiente.

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

3.6. Adaptabilidade e estabilidade

Estudos a respeito da interação genótipos x ambientes, apesar de serem de grande importância para o melhoramento, não proporcionam informações detalhadas sobre o comportamento de cada genótipo frente às variações ambientais. Para tal objetivo, realizam análises de adaptabilidade e estabilidade, pelas quais se torna possível a identificação de cultivares com comportamento previsível e que sejam responsivos às variações ambientais ou amplas (CRUZ e REGAZZI, 1997).

Adaptabilidade e estabilidade apesar de serem termos relacionados, não devem ser considerados como um só. Segundo MARIOTTI *et al.* (1976), adaptabilidade é a capacidade potencial das cultivares de responderem vantajosamente aos estímulos ambientais, já a estabilidade é a capacidade de uma cultivar exibir um desempenho o mais constante possível, em função de variações na qualidade ambiental.

CRUZ e REGAZZI (1997) conceituam estabilidade como a capacidade de as cultivares mostrarem um comportamento altamente previsível em função do estímulo ambiental.

KIIHL e ALMEIDA (2000) afirmaram que uma boa variedade de soja deve ter alta produtividade e estabilidade de produção nos mais variados ambientes possíveis. Os autores ressaltam ainda que a estabilidade é conferida pela introdução de resistência as doenças, aos nematóides e aos insetos e pela introdução de características agronômicas

especiais como tolerância aos solos ácidos, penetração profunda de raízes e alta qualidade fisiológica de sementes, proporcionando a planta maior tolerância aos fatores adversos que podem comprometer a produção.

Nos programas de melhoramento para qualquer espécie cultivada, os genótipos são avaliados em diferentes ambientes antes da seleção final, recomendação e distribuição para a exploração comercial (MAURO, 1991).

O estudo da estabilidade fenotípica fornece informações detalhadas sobre o comportamento de cultivares em diversos ambientes e isso permite indicar, com segurança, os cultivares mais adaptados tanto a ambientes específicos, como para uma determinada área e, por isso, recomenda-se a utilização, em programas de melhoramento, de métodos que permitam avaliar a capacidade genética de adaptação e desempenho das cultivares diante das variações ambientais (BONATO, 1978).

Há vários métodos para estimar estabilidade e adaptabilidade e a escolha do método dependerá dos dados experimentais, do número de ambientes disponíveis, da precisão requerida e do tipo de informação desejada (CRUZ e REGAZZI, 1997). Os métodos mais comumente utilizados são os seguintes: o Tradicional, e os propostos por PLAISTED e PETERSON (1959), FINLAY e WILKINSON (1963), WRICKE (1965), EBERHART e RUSSELL (1966), TAI (1971), VERMA *et al.* (1978), SILVA e BARRETO (1985), LIN e BINNS (1988), CRUZ *et al.* (1989), HUEHN (1990), ANNICCHIARICO (1992), MURAKAMI (2001) e o método baseado em componentes principais, denominado de Método de Centróide (ROCHA *et al.* 2005).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, J.W., SMITH, B.M., WASHNOCK, C.S. Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean intake. **American Journal Clinical Nutrition**, v.70, p.464AS-74S, 1999.
- ANDRIGUETTO, J.M., PERLY, L., MINARDI, I., GEMAEL, A., FLEMMING, J.S., SOUZA, G.A., FILHO, A.B. **Nutrição Animal**. Sao Paulo: Nobel. v.1, 396p, 2002.
- ANAND, S.C., TORRIE, J.H. Heritability of yield and other traits and interrelationships among traits in the F₃ and F₄ generations of three soybean crosses. **Crop Science**, v.3, p.508-511, 1963.
- ANNICCHIARICO, P. Cultivar adaptation and recommendation from alfalfa trials in Northern Italy. **J. Genet. & Breed.** 46: p. 269-278. 1992.
- ANNISON, G & CHOCT, M. Anti-nutritive activities of cereal non-starch polysaccharides in broiler diets and strategies minimizing their effects. **World's Poultry Science Journal**, Beekbergen, v. 47, n.4, p. 232-242, Nov. 1991.
- BATAGLIA, A.M. A extrusão no preparo de alimentos para animais. In: **Simpósio Brasileiro De Nutrição Animal**, Campinas. Anais. v.3, p.73-81, 1990.
- BATISTA, R.B., OLIVEIRA M.G.A., PIRES C. V. *et al.* Caracterização bioquímica e cinética de lipoxigenases de plantas de soja submetidas à aplicação de ácidos graxos poliinsaturados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília v.37 n.11 p.1517-1524, 2002.
- BELLAVER, C., SNIZEK, P.N.J. Processamento da soja e suas implicações na alimentação de suínos e aves. In: **Congresso Brasileiro De Soja**, Londrina. Anais... p.183-196, 1999.
- BONATO, E. R. **Estabilidade fenotípica da produção de grãos de dez cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) nas condições do Rio Grande do Sul**. Piracicaba: ESALQ/USP. 75p. 1978. (Tese de Mestrado).
- BORÉM, A., MIRANDA, G. V. **Melhoramento de Plantas**. 4. ed. Viçosa: Ed. UFV, 2005. 525 p.
- BORGES, S.A., SALVADOR, D., IVANOVSKI, R. A. Utilização da soja desativada na dieta de monogástricos. In: **Simpósio Sobre Ingredientes Na Alimentação Animal**. Campinas CBNA p.21-66, 2003.
- CAFÉ, M.B. Utilização da soja integral na alimentação de aves. In: **Simpósio Goiano De Avicultura, Goiânia**. Anais... p.19-31, 1996.
- CANTOR, A. Enzimas usadas na Europa, Estados Unidos e Ásia. Possibilidades para uso no Brasil. In: Ronda Latinoamericana De Biotecnologia V, Curitiba. **Anais**. Curitiba: Alltech, p.31-42, 1995.
- CARPENTIERI-PÍPOLO, V., GASTALDI, L. F., PÍPOLO, A. E. Correlações fenotípicas entre caracteres quantitativos em soja. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 11-16, jan./mar. 2005.

CARNEIRO, P. C. S. **Novas metodologias de análise da adaptabilidade e estabilidade de comportamento.** 1998. 168 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1998.

CASTILLO, E.M., DE LUMEN, B.O., REYES, P.S., DE LUMEN, H.Z. Raffinose synthase and galactinol synthase in developing seeds and leaves of legumes. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.38, p.351-355, 1990.

CECON, P. R., MORAIS, A.R., SEDIYAMA, C. S. Obtenção da herdabilidade e das correlações genotípicas, fenotípicas e de ambiente nas gerações F2 e F3 de cruzamentos fatoriais em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 12, p. 1399-1406, dez. 1993.

CHOCT, M. Feed non-starch polysaccharides: Chemical structures and nutritional significance. **Feed Milling International**. June: 13-26. 1997.

CHOCT, M. E KOCHER, A. Non-starch polysaccharides: Chemical structures and nutritional significance. **Feed Milling International**. June: p.13-26, 2000.

CHOCT, M. Non- starch polysaccharides: effect on nutritive value In: Poultry feedstuffs: supply, composition and nutritive value In: MACNAB, J.M. e BOORMAN, K.N. (eds.) **Factors influencing nutritive value**. CAB International. p.221-235, 2002.

CLASSEN, H. L. Cereal grain starch and exogenous enzymes in poultry diets. **Animal Feed Science Technologic**, v. 62 (1), p. 21-27, 1996.

COON, C.N., LESKE, K.L., AKAVANICHAN, O., CHENG, T.K. Effect oligosaccharide-Free soybean meal on true metabolizable energy and fiber digestion in adult roosters. **Poultry Science**, v.69, p.787-793, 1990.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Central de Informações Agropecuárias: Safras 2008.** Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/>>. Acessado em: Maio de 2008.

CONTE, A. J., TEIXEIRA, A. S., BERTECHINI, A. G., FIALHO, E. T.; MUNIZ, J. A. Efeito da fitase e xilanase sobre a energia metabolizável do farelo de arroz integral em frangos de corte. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, n. 6, p. 1289-1296, nov/dez 2002.

CRUZ. C. D., TORRES. R. A., VENCOSKY. R. An alternative approach to the stability analysis proposed by Silva and Barreto. **Revista Brasileira de Genética**. Ribeirão Preto. v. 12. p. 567-580. 1989.

CRUZ, C.D., REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** Ed. UFV, Viçosa-MG, 390p, 1997.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos Biométricos aplicados ao Melhoramento Genético.** Viçosa: UFV, v.2, 585 p. 2003.

CRUZ. C.D.; REGAZZI. A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genéticos.** Viçosa - MG: UFV. 390 p.1997.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos Biométricos aplicados ao Melhoramento Genético**. 3. ed. Viçosa: UFV, v. 1, 480 p. 2004.

Da SILVA, R., FRANCO, C.L.M., GOMES, E. Pectinases. Hemicelulase e celulasas, ação, produção e aplicação no processamento de alimentos: **revisão**. **Bol SBCTA**, v.31, n.2, p.249-260, 1997.

De Lumen, P.O. Molecular strategies to improve protein quality and reduce flatulence in legumes - a review. **Food Structure**, v.11, p.33-46, 1992.

DEY, P.M. Biochemistry of alfa-galactosidase linkages of in plants Kingdom. **Advanced Carbohydrates Biochemistry**, v.37, p.237-283, 1980.

DEY, P.M. IN; PM.; DIXON, R.A. Biochemistry of storage carbohydrates in Green plants. **Academic Press**, p.53-129, 1985.

DEY, P.M. IN; Methods in plant bichimistry. London. **Academic Press**, p.189-218, 1990.

EBERHART, S. A.; RUSSELL, W. A. Stability parameters for comparing varieties. **Crop Science**, Madison, v. 6, n. 3, p. 36-40, 1966.

EMBRAPA, 2006. Sistema de produção 11: **Tecnologias de produção de soja – região central do Brasil 2007**. Londrina: Embrapa Soja, p.225.

FALCONER, D.S. **Introdução à genética quantitativa**. 1ª ed. (Trad. de Silva, M.A.). Viçosa: UFV, 1987. 279p, 1987.

FERREIRA FILHO, E. X. **The xylan-degrading enzyme system** (review). Braz. J. Med. Biol. Res., v.27, p.1093-1109, 1994.

FINLAY, K. E.; WILKINSON, G. N. The analysis of adaptation in a plantbreeding program. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v. 14, n. 6, p. 742-754. 1963.

FRANCIS, G., MAKKAR, H. P. S., BECKER, K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. **Aquaculture**, v.199, p.197-227, 2001.

FUNNAH, S. M.; MAK, C. Yield stability studies in soybean (*Glycine max*). **Experimental Agriculture**, London, v. 16, n. 4, p. 387-392. 1980.

GITZELMANN R, AURICCHIO S. The handling of soy alpha-galactosidase by a normal and galactosemic child. **Pediatrics**, v.36, p.231-235, 1965.

GRUPPEN, H. Triggering the breaking of nutrients. **Feed Mix**, v.4, n.1, p.24-28, 1996

HARTWIG, E.E., KUO, T.M., KENTY, M.M. Seed protein and its relationship to soluble sugars in soybean. **Crop Science**, v.37, p.770-773, 1997.

HOLBROOK, C.C., BURTON, J.W., CARTER JÚNIOR, T.E. Evolution of recurrent restricted index selection for increasing yield while holding seed protein constant in soybean. **Crop Science**, v.29, p.324-329, 1989.

HUEHN. M. Nonparametric measures of phenotype stability. Part 1: **Theory Euphytica**, v.47. n.3. p.189-194. 1990.

HYMOWITZ, T., COLLINS, F.I., PANCZNER, J., WALKER, W.M. Relationship between the content of oil, protein, and sugar in soybean seed. **Agronomy Journal**, v.64, p.613-616, 1972.

KAKADE, M. L., SIMONS, N. R., LIENER, I. E., LAMBERT, J. W. Biochemical and nutritional assessment of different varieties of soybeans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.20, n.1, p.87-90, 1972.

KANDLER, O., HOLF, H. Metabolism and fuction of oligosaccharides. In; Biochemistry of Plants. v.3. **Carbohydrates**, Press J. (ed), New York: Academic Press, p.231-270, 1980.

KIIHL. R. A. S., ALMEIDA. L. A. A. O futuro do melhoramento genético como agregador de metodologias via semente. In: **Anais do congresso de tecnologias e competitividade da soja no mercado global**. Cuiabá. Anais... Cuiabá. p.45-47. 2000.

JONES, D.A., DUPONT, M.S., AMBROSE, M.J., FRIAS, J., HEDLEY, L.C. The discovery of compositional variation for the raffinose family of oligosaccharides in pea seeds. **Seed Science Research**, v.9, p.305-310, 1999.

LEESON, S., SUMMERS, J. D. **Nutrition of the chickens**. 4.ed. Guelph: University Books, 2001 .591 p. LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L; COX, M. M.

LOPES. A.C.A., VELLO. N.A., PANDINI. F., ROCHA. M.M., TSUTSUMI. C.Y. Variabilidade e correlações entre caracteres em cruzamentos de soja. **Scientia Agrícola**. Piracicaba, v.59. n.2. p.341-342, 2002.

LIMA, G.J.M.M. Importance of the nutritional quality of soybeans and their products in the feed market: actual situation and future trends. **Anais Congresso Brasileiro de Soja**, Londrina, PR Embrapa- SPI. p.165-175, 1999.

LIENER, I. E. Trypsin inhibitors: concern for human nutrition or not? **Journal of Nutrition**, v.116, n.5, p.920-923, 1986.

LIN. C.S., BINNS. M.R. A superiority measure of cultivar performance for cultivar x location data. **Canadian Journal of Plant Science**. v.68. n.3. p.193-198. 1988.

LIU, J.J., ODEGARD, W., DE LUMEN, B.O. Galactinol synthase from kidney bean cotyledon and zucchini leaf. Purification and N-terminal sequences. **Plant Physiology**, v.109, p.505-511, 1995.

MARIOTTI. J. A., OYARLABAL. E. S., OSA. J. M., BULACIO. A.M.R., ALMADA. G.H. Analisis de estabilidad y adaptabilidad de genótipos de canã de azucar e enteracciones dentro de una localidad experimental. **Revista Agronomica del Noroeste Argentino**. Tucuman. v.13. n.1/4. p .105-127. 1976.

MAURO, A. O. **Adaptabilidade, estabilidade e ganho genético com o processo seletivo em soja (*Glycine max* (L.) Merrill) em Ponta Porã, Mato Grosso do Sul**. 1991. 192 p.

Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1991.

MINORSKY, P. The hot and the classic. **Plant Physiology**, v.131, p.1159-1160, 2003.

MOREIRA, M.A. Programa de melhoramento genético da qualidade de óleo e proteína da soja desenvolvido na UFV. In: **Anais** Congresso Brasileiro de Soja, Londrina, P.R. Embrapa- SPI. P.99-104, 1999.

MORO, G. L., REIS, M. S., SEDIYAMA, C. S., SEDIYAMA, T., OLIVEIRA, A. B. Correlações entre alguns caracteres agrônômicos em soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 39, n. 223, p. 225-232, mai./jun. 1992.

MONTEIRO, M.R.P., COSTA, N.M.B., OLIVEIRA, M.G.A., *et al.* Qualidade protéica de linhagens de soja com ausência do inibidor de tripsina Kunitz e das isoenzimas lipoxigenases. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.17, n.2, p.195-205, 2004.

MONTENEGRO, E. E. **Estimativas de parâmetros genéticos, no verão e no inverno, em cruzamentos entre cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), divergentes quanto a juvenilidade.** Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 94 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento), 1994.

MOURINHO, F.L. **Avaliação nutricional da casca de soja com ou sem adição de complexo enzimático para leitões na fase de creche.** 2006. 55 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá. 2006.

MURAKAMI, D. M. **Novas metodologias de análise de interação genótipos x ambientes: análise combinada de estratificação, adaptabilidade e estabilidade e análise de representatividade ambiental.** Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 154p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento), 2008.

NAKASATHIEN, S., ISRAEL, D.W., WILSON, R.F.; KWANYUEN, P. Regulation of seed protein concentration in soybean by supra-optimal nitrogen supply. **Crop Science**, v.40, p. 1277-1284, 2000.

NUNES, R.V. BUTERI, C.B., NUNES, C.G.V., *et al.* Fatores Antinutricionais dos Ingredientes Destinados à Alimentação Animal. In: **Simpósio sobre Ingredientes na Alimentação Animal**. Campinas CBNA, p. 235-272, 2001.

PALENZUELA, P. R., GARCIA, J., BLAS, C. Fibra soluble y su implicacion en nutricion animal: enzimas y probioticos. In: **Avances en Nutrición y Alimentación Animal**. Barcelona: FEDNA. p. 227-240, 1998.

PELÚZIO, J. M., SEDIYAMA, C. S., REIS, M. S., SEDIYAMA, T. Influência da localidade, adubação e época de plantio no ordem de classificação de cultivares de soja, no Estado do Tocantins. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 45, n. 259, p. 295-301, mai./jun. 1998.

PIOVESAN, N.D. **Desenvolvimento de linhagens de soja com alto teor protéico e produtivas: avaliação de estratégias e critérios de seleção e mapeamento de locos que controlam o conteúdo de proteína nos grãos.** Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 141p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento), 2008.

PLAISTED, R. L., PETERSON, L. C. A technique for evaluating the ability of selections to yield consistently in different locations or seasons. **América Potato Journal**, v. 36. p. 381-385. 1959.

ROSA, A.P & UTTPATEL, R. Uso de enzimas nas dietas para frangos de corte. IN: VIII SIMPOSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA. **Anais**. Chapeco, p.102-115, 2007.

PRICE, K.R., LEWIS, J., WYATT, G.M. & FENWICK, G.R. Flatulence-causes, relation to diet and remedies. **Nahrung**, v.32, p.609-626, 1988.

RIBEIRO, M. **Estabelecimento de um método colorimétrico para determinação da atividade da galactinol sintase, purificação parcial e caracterização da enzima de sementes de soja**. Universidade de Brasília, Brasília-DF, 125p. (Tese D.S), 2001.

ROCHA, R. B., MURO-ABAD, J. I., ARÚJO, E. F., CRUZ, C. D. Avaliação do método centróide para estudo de adaptabilidade ao ambiente de clones de *Eucalyptus grandis*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 15, n. 3, p. 255-266, jul./set. 2005.

Royal Society of Chemistry Special Publication, n.83. Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1990.

SARAVITZ *et al.*, 1987 d.m. SARAVITZ, d.m. Pharr and t.e. Carter, Galactinol synthase activity and soluble sugars in developing seeds of four soybean genotypes, **Plant Physiology**, v.83, p.185-189, 1987.

SELVENDRAN, R.R., ROBERTSON, J.A. The chemistry of dietary fibre: a holistic view of the cell wall matrix. In: SOUTHGATE, D.A.T.; WALDROM, K.; JOHNSON, I.T. and FENWICK, G.R. (Eds.) **Dietary Fiber: Chemical and Biological Aspects**,

SHIMOYA, A. **Comportamento de genótipos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) nas gerações F9 e F10 selecionados pelo teste de geração precoce**. 1987. 132 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1987.

SILVA, J.G.C., BARRETO, J.N. Aplicação da regressão linear segmentada em estudos da interação genótipo x ambiente. In: **Simpósio de experimentação agrícola**. 1. 1985. Piracicaba. Anais. Piracicaba: ESALQ. p. 49-50. 1985.

SMITS, C. H. M., ANNISON, G. Non-starch plant polysaccharides in broiler nutrition Towards a physiologically valid approach to their determination. **Worlds Poultry Science**. J, v.52, p.203-221, 1996.

SUAREZ, F.L., SPRINGFIELD, J., FURNE, J.K., LOHRMANN, T.T., KERR, P.S., LEVITT, M.D. Gas production in humans ingesting a soybean flour derived from beans naturally low in oligosaccharides. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.69, p.135-139, 1999.

STEGGERDA, F.R., DIMMICK, J.F. Effect of bean diet on concentration of carbon Dioxide in flatus. **American Journal of Clinical Nutrition**, V.19, p.120-124, 1966.

STEEL, R. G. D., TORRIE, J.H. **Principles and Procedures of Statistics**. 2.ed. New York: McGraw - Hill Book Company, 633p. 1980.

TAI, G.C.C. Genotypic stability analysis and its application to potato regional trials. **Crop Science**, Medison, v.11, n.2, p.184-190, 1971.

TAVERNARI, F.C., CARVALHO, T.A, ASSIS, P., JOSE, LIMA, H.J. Polissacarídeo não-amiláceo solúvel na dieta de suínos e aves. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.5, p.673–689, 2008.

THAKUR, D.R., PRAKASH, O .M., KHARWARA, P. C., BALLA, S. K., PRAKASH, O. Effect of nitrogen and plant spacing on growth, yield and economics of baby corn (*Zea mays* L.). **Indian Journal of Agriculture**, v.42, n.3, p.479-483, 1997.

TRUGO, L.C., FARAH, A., CABRAL, L. Oligosaccharide distribution in Brazilian soya bean cultivars. **Food Chemistry**, v.52, p.385-387, 1995.

VERMA. M. M., CHAHAL. G. S., MURTY. B. R. Limitations of conditional regression analysis: a proposed modification. **Theoretical and Applied Genetics**, v.53. n.2. p. 89-91. 1978.

WAGNER, J.R., BECKER, R., GUNBMANN, R., OLSON, A.C. Hydrogen production in the rat following ingestion of raffinose, stachyose and oligosaccharide-free bean residue. **Journal Nutrition**, v.106, p.466- 470, 1976.

WILCOX, J.R., SHIBLES, R.M. Interrelationships among seeds quality attributes in soybean. **Crop Science**, v.41, p.11-14, 2001.

WRICKE. G. Über eine methode zur erfassung der ökologischen streubreite I feldversuchen. **Z. Pflanzenzuchtq**. v.47. p. 92-96. 1965.

WOBUS, U., BÄUMLEIN, H., CONRAD, U., MÜNTZ, K. & WEBER, H. Seeds of change. **Meeting Report**, (5) 512-513, 2000.

CAPÍTULO 1

**AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO GENÓTIPO × AMBIENTE E ANÁLISE DE
CORRELAÇÃO ENTRE PRODUTIVIDADE, CONTEÚDOS DE PROTEÍNA,
SACAROSE, RAFINOSE E ESTAQUIOSE EM GRÃOS DE SOJA**

RESUMO

O interesse mundial pelo cultivo da soja deve-se à excelente combinação que ela apresenta entre produtividade, concentrações de óleo e conteúdo de proteína. Os programas de melhoramento de soja têm se concentrado no desenvolvimento de variedades mais produtivas. Porém, recentemente trabalhos que visam o desenvolvimento de cultivares de melhor qualidade nutricional têm se concentrado no aumento da concentração de proteínas, na alteração da composição da fração óleo e na diminuição de fatores antinutricionais das sementes. A seleção de genótipos com alta produtividade de grãos, altas concentrações de proteína e óleo e baixas concentrações de fatores antinutricionais, como os oligossacarídeos é o principal objetivo dos programas de melhoramento. A interação genótipos x ambientes (G x A) constitui-se num dos maiores problemas dos programas de melhoramento de qualquer espécie, seja na fase de seleção ou na de recomendação de cultivares. Entre as alternativas para se amenizar a influência dessa interação, tem sido recomendado o emprego de cultivares com ampla adaptabilidade e boa estabilidade. Portanto, este trabalho teve os seguintes objetivos; determinar as concentrações de proteína, sacarose e oligossacarídeos de rafinose em grãos de soja; estimar os parâmetros de adaptabilidade e estabilidade para os caracteres produtividade e para as concentrações, de proteína, sacarose, rafinose e estaquiose, de 18 genótipos de soja em quatro ambientes diferentes; estimar as correlações entre as características dos genótipos analisados. Para isto, foram avaliados 18 genótipos de soja, cultivados nas estações experimentais da COOPADAP situadas nos municípios de Mineiros-GO, Perdizes-MG, São Gotardo-MG e Presidente Olegário-MG, no ano agrícola 2006/2007. Os experimentos foram executados em blocos casualizados, com três repetições. Foi determinada a produtividade média (Kg ha^{-1}) dos 18 genótipos nos quatro ambientes, assim como, as concentrações: de proteína utilizando um espectrômetro infravermelho (NIR); sacarose, rafinose e estaquiose por HPLC. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do aplicativo computacional em genética e estatística, Programa GENES. Na análise de variância conjunta, verificaram-se efeitos significativos para ambiente e genótipo x ambiente ($p < 0,01$), para todas as cinco características avaliadas. Foram detectados efeitos significativos de genótipo ($p < 0,01$) para produtividade e proteína e ($p < 0,05$) para sacarose e rafinose. As análises de adaptabilidade e estabilidade foram realizadas utilizando-se o método de Lin e Binns (1988) modificado por Carneiro (1998) e método de Centróide. Os dois métodos empregados mostraram coerência e permitiram identificar os genótipos mais estáveis e responsivos a melhoria do ambiente como sendo também os que apresentaram maior produtividade e maiores concentrações de proteína, sacarose, rafinose e estaquiose.

Os genótipos que se destacaram pela ampla adaptabilidade segundo as duas metodologias empregadas no presente trabalho foram; considerando a variável produtividade, as cultivares VENCEDORA e MSOY 8001; para concentração de proteína, a cultivar ELITE; para concentração de sacarose, a linhagem CS 01 736; para a concentração de rafinose, a linhagem CS 02 988 e para a concentração de estaquiose, a cultivar MSOY 8001. Produtividade e concentração de proteína apresentaram correlação negativa, o que mostra que a seleção para um determinado caráter pode provocar o declínio do outro. A correlação entre a produtividade e concentração de sacarose não foi significativa. O mesmo comportamento foi observado entre a concentração de proteína vs concentração de sacarose e entre a concentração de proteína vs concentração de estaquiose. O fato desses caracteres não estarem correlacionados facilita a seleção de genótipos com alta concentração de sacarose e alta produtividade, ou ainda, genótipos com altas concentrações de sacarose e proteína. A correlação entre produtividade vs concentração de rafinose e produtividade vs concentração de estaquiose foram negativas e significativas, essa correlação negativa e significativa facilita a seleção de genótipos com alta produtividade e com baixas concentrações de rafinose e estaquiose. A concentração de sacarose apresentou altos e positivos coeficientes de correlação com as concentrações de rafinose e estaquiose, indicando a impossibilidade de se fazer à seleção direta de indivíduos com alta concentração de sacarose e baixas concentrações de rafinose e estaquiose.

1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) constitui um dos produtos agrícolas de maior importância econômica para o Brasil, sendo cultivada desde o Rio Grande do Sul até a região amazônica. O interesse mundial pelo cultivo da soja deve-se à excelente combinação que ela apresenta entre produtividade, concentração de óleo e concentração de proteína (WOBUS *et al.* 2000). Como resultado dos esforços do melhoramento genético, atualmente, existe um grande número de cultivares disponíveis e adaptados a todas as regiões brasileiras.

Os programas de melhoramento de soja têm se concentrado no desenvolvimento de variedades mais produtivas; mais recentemente, há também uma preocupação com características de qualidade, tais como concentração e composição do óleo e da proteína de reserva, assim como na diminuição das concentrações de fatores antinutricionais. Portanto, o melhoramento genético da soja depende do entendimento dos fatores genéticos e fisiológicos que afetam tais caracteres.

As primeiras variedades de soja cultivadas no Brasil, no início dos anos 70 foram introduções de variedades americanas ou derivadas de cruzamentos entre elas. Sabe-se também que os programas de melhoramento nessa época, principalmente nos Estados Unidos, priorizavam o desenvolvimento de variedades produtivas e com concentração elevada de óleo. Pelo fato deste último estar negativamente correlacionado com a concentração de proteína, este tem se mantido em torno de 40%, embora o potencial de acúmulo de proteínas da soja seja maior (cerca de 50%), de acordo com KRISHNAN *et al.* (2000).

Atualmente, o farelo de soja é o principal subproduto das indústrias de processamento no Brasil, sendo que a maior parte dele (cerca de 65%) destina-se à exportação. A concentração de proteína no farelo influencia na formação do seu preço, sendo assim, há um interesse no desenvolvimento de variedades produtivas e com alta concentração de proteína. No entanto, existe uma limitação de natureza genética: o germoplasma de soja adaptado ao Brasil não apresenta genes para alta concentração de proteína. Uma das alternativas para solucionar esse problema seria a introdução de genótipos exóticos com alta concentração de proteína nos programas de melhoramento. Todavia, deve-se ter em mente que os genótipos exóticos normalmente apresentam baixo potencial produtivo e que o programa deve ser direcionado no sentido de recuperar os genes ligados à produtividade presentes no material adaptado.

A aparente correlação negativa entre a concentração de proteína e produção de grãos em soja não parece oferecer nenhuma limitação ao desenvolvimento de variedades que sejam simultaneamente produtivas e com altos teores de proteínas. Isto foi demonstrado no trabalho desenvolvido por WILCOX & CAVINS (1995) que, utilizando uma série crescente de retrocruzamentos, obtiveram, ao final do terceiro retrocruzamento, progênies com alta concentração de proteína e alta produtividade.

O programa de melhoramento de qualidade da soja desenvolvido pelo Instituto de Biotecnologia Aplica a Agropecuária - BIOAGRO/ UFV, tem obtido uma série de linhagens de soja com altas concentrações de proteínas (maiores que 45%), e com alto potencial produtivo.

A informação de como estão correlacionados os conteúdos dos diversos constituintes da semente da soja é essencial em um programa de melhoramento que visa melhorar a qualidade dos grãos desta cultura. O seu conhecimento é importante porque mostra como a seleção para um caráter influencia a expressão de outros caracteres. Nos programas de melhoramento, geralmente, além de se visar o aprimoramento de um caráter principal busca-se também manter ou melhorar a expressão de outros caracteres.

Outra etapa de grande importância em um programa de melhoramento da qualidade da soja é estudo da interação genótipos x ambientes (G x A), o qual constitui num dos maiores problemas, seja na fase de seleção ou na de recomendação de cultivares. A interação genótipo x ambiente reflete as diferenças na sensibilidade dos genótipos às variações ambientais, resultando em mudanças no desempenho relativo dos genótipos (AZEVEDO, 2004). Entre as alternativas para se amenizar a influência dessa interação, tem sido recomendado o emprego de cultivares com ampla adaptabilidade e boa estabilidade em diferentes ambientes.

A importância comercial e nutricional da soja para alimentação humana e animal é bem conhecida. Porém, junto com proteína e óleo alguns componentes indesejáveis também são encontrados nos grãos. Fatores antinutricionais como inibidores de tripsina e quimiotripsina, lectinas, oligossacarídeos de rafinose e polissacarídeos não-amídicos estão presentes em leguminosas, inclusive na soja. Sendo assim é de grande importância determinar a composição de diferentes cultivares de soja para selecionar aqueles com altas concentrações de proteína e óleo e baixo nível de fatores indesejáveis (TRUGO *et al.* 1995).

Muitos fatores antinutricionais da soja podem ser inativados com tratamento térmico, mais outros como os polissacarídeos não-amídicos e os oligossacarídeos são termoestáveis, não sendo eliminados com tratamentos térmicos (FRANCIS *et al.* 2001; LESKE *et al.* 1993).

Portanto, a identificação de genótipos de soja que apresentem ampla adaptabilidade e estabilidade em diferentes ambientes, e proporcionalmente, alta produtividade, alta concentração de proteína e baixas concentrações de fatores indesejáveis, como os oligossacarídeos de rafinose é de grande importância, visando seu uso como genitores em programas de melhoramento, ou para uso direto na alimentação humana e de animais monogástricos. Também genótipos de soja com altas concentrações de sacarose e com baixas concentrações de rafinose e estaquiose são mais adequados para utilização em produtos destinados a alimentação humana.

2. OBJETIVOS

- Determinar as concentrações de proteína, sacarose e oligossacarídeos de rafinose em grãos de soja, de plantas cultivadas em quatro ambientes diferentes e avaliar as possíveis interações entre genótipo e ambiente;

- Estimar os parâmetros de adaptabilidade e estabilidade para os caracteres; produtividade e as concentrações, de proteína, sacarose, rafinose e estaquiose, de 18 genótipos de soja em quatro diferentes ambientes;

- Estimar as correlações entre os caracteres analisados no presente trabalho;

- Identificar genótipos de soja que apresentem ampla adaptabilidade e estabilidade, alta produtividade e maiores concentrações de proteína, sacarose e baixa concentração de rafinose estaquiose, visando seu uso em programas de melhoramento do valor nutricional da soja, para uso na alimentação humana e de animais monogástricos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material genético

Foram avaliados 18 genótipos de soja, fornecidos pela empresa COOPADAP (Cooperativa Agropecuária do Alto Paranaíba), (Tabela 1). Os quais foram cultivados em três locais em Minas Gerais (Perdizes, São Gotardo e Presidente Olegário), e um em Goiás (Mineiros); no ano agrícola 2006/2007 (Tabela 2).

Tabela 1 - Lista dos 18 genótipos de soja fornecidos pela empresa COOPADAP (Cooperativa Agropecuária do Alto Paranaíba) plantados em três locais em Minas Gerais (Perdizes, São Gotardo e Presidente Olegário) e um em Goiás (Mineiros) no ano agrícola 2006/2007

1	CS 01 736		7	CS 02 988		13	CS 02 521
2	CS 02 884		8	CS 021026		14	CS 02 302
3	CS 02 564		9	LUZIANIA		15	CS 821
4	CS 02 449		10	MONARCA		16	CS 801
5	CS 02 731		11	GARANTIA		17	MSOY8001
6	CS 01 873		12	ELITE		18	VENCEDORA

Tabela 2 - Informações Geográficas e Condições Climáticas dos Municípios

Ambiente	Localização	Altitude(m)	Latitude	Precipitação Média anual	Temperatura Média Anual
Perdizes	Alto Paranaíba	973 m	19° 35' 33"	1575 mm	20,4° C
São Gotardo	Alto Paranaíba	1055 m	19° 29' 59"	1427 mm	20,7° C
Presidente Olegário	Noroeste de Minas	947 m	18° 24' 50"	1475 mm	20,4° C
Mineiros	Sudoeste de Goiás	750 m	17° 34' 14"	2005 mm	23° C

O experimento foi conduzido com os 18 genótipos, no delineamento em blocos casualizados com três repetições. Cada repetição constituiu-se de quatro fileiras de 5 m de comprimento, plantadas em espaçamento de 0,5 m. A área útil da parcela foi constituída

apenas pelas plantas presentes nos 4 m internos das duas fileiras centrais. A análise dos açúcares foi realizada no laboratório de Análises Bioquímicas do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (Bioagro) da Universidade Federal de Viçosa.

3.2. Método da absorção no infravermelho

A concentração de proteínas das sementes dos 18 genótipos plantados em quatro diferentes ambientes foi determinado utilizando um espectrômetro infravermelho (NIR, equipamento Agrosystem, modelo instalab 600 product analyzer). Foram coletadas sementes (cerca de 10 gramas) de cada um dos 18 indivíduos plantados em cada ambiente. As sementes foram trituradas em um moinho apropriado gerando granulometria adequada para a leitura de absorbância no equipamento NIR.

3.3. Extração e determinação dos oligossacarídeos de rafinose

A extração dos oligossacarídeos das sementes de soja foi realizada de acordo com a metodologia proposta por GUIMARÃES *et al* (2001). As sementes foram moídas, foram pesado cerca de 30 mg de farinha, as quais foram utilizadas para o processo de extração dos oligossacarídeos. A fração óleo presente na farinha foi retirada por 4 extrações sucessivas com 1,0 ml de éter de petróleo a 42 °C por 5 min. Três etapas sucessivas de tratamento com etanol 80 % a 100 °C por 5 min foram usadas para extrair os oligossacarídeos da farinha desengordurada. Após cada extração com etanol 80 % a mistura foi centrifugada em centrífuga do tipo Eppendorff 5415C, 14.000 rpm, por 5 min. O extrato alcoólico total obtido foi evaporado em estufa a 50 °C, e os oligossacarídeos ressuspensos em 1,0 ml de etanol 80 % e congelados a -20°C. Essa solução foi submetida à centrifugação por 10 min e filtrada em filtro Milipore de 0,45 micra de diâmetro. O filtrado foi analisado em HPLC.

Para quantificação dos oligossacarídeos, inicialmente foi feita uma padronização do método (HPLC). A partir de uma solução estoque contendo mistura de diferentes açúcares (frutose, sacarose, rafinose e estaquiase) nas concentrações de 4, 4, 8 e 8 % (p/v), respectivamente, foram feitas diluições para obtenção das soluções padrão. Cada solução foi injetada no cromatógrafo para obtenção das curvas, correlacionando a área do pico com a concentração do açúcar na solução. As retas foram obtidas por regressão linear.

Os ROs extraídos foram analisados por HPLC em cromatógrafo Shimadizu serie 10A, equipado com detector de índice de refração, uma coluna em aço inox (25 × 0,465 cm)

contendo na fase estacionária o grupo aminopropil (-NH₂). A mistura acetonitrila-água (80:20) em condições isocráticas foi a fase móvel. As análises foram realizadas a 35°C em um fluxo de 1.2 mL/min e todo o processo foi controlado por um computador acoplado ao sistema.

Um volume de 20 µL de cada amostra foi injetado e analisado no cromatógrafo e cada açúcar presente foi identificado e quantificado por comparação com os tempos de retenção e concentrações dos açúcares nas soluções padrões.

3.4. Análises estatísticas

Os dados foram submetidos a análises estatísticas de acordo com os objetivos do presente trabalho, utilizando, para isso, o programa GENES (CRUZ *et al.* 2007).

Realizou-se análise de variância conjunta para avaliar a existência de variabilidade genética entre os genótipos estudados e o efeito de ambientes, por meio do delineamento experimental em blocos casualizados, considerando-se o esquema fatorial 18 x 4 (genótipos x ambientes), com três repetições. Utilizou-se o teste F a 1 e 5% para testar as hipóteses dos efeitos principais e das interações, em que o efeito do genótipo foi considerado fixo e o efeito de ambiente aleatório.

O modelo estatístico adotado foi o descrito na equação 4:

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

onde:

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

μ = média geral;

G_i = efeito do i-ésimo genótipo;

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

A_j = efeito do j-ésimo ambiente;

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

ε_{ijk} = erro aleatório.

Na análise de estabilidade e adaptabilidade foram utilizadas as seguintes metodologias: Lin e Binns (1988) modificado por Carneiro (1998), e o Método Centróide (ROCHA *et al.* 2005), as quais são descritas a seguir.

3.4.1. Método proposto por Lin e Binns (1988) modificado por Carneiro (1998)

Lin e Binns (1988) definiram, como medida para estimar a adaptabilidade e estabilidade, o quadrado médio da distância entre a média da cultivar e a resposta média máxima obtida no ambiente. A recomendação é baseada na estimativa do parâmetro (P_i) como medida de superioridade, como a seguir:

$$P_i = \frac{\sum_{j=1}^a (Y_{ij} - M_j)^2}{2a}$$

onde:

P_i : estimativa do parâmetro estabilidade do cultivar i ;

Y_{ij} : produtividade do i -ésimo genótipo no j -ésimo ambiente;

M_j : resposta máxima observada entre todos os genótipos no ambiente j ;

a : número de ambientes

Apesar da metodologia de Lin e Binns (1988) ser bastante promissora para recomendação geral de cultivares, Carneiro (1998) propôs a recomendação de cultivares particularizando grupos de ambientes favoráveis e desfavoráveis, refletindo ambientes de utilização de alta e baixa tecnologia, respectivamente. Assim, decompôs a estatística P_i em ambientes favoráveis e desfavoráveis.

$$P_{if} = \frac{\sum_{j=1}^f (Y_{ij} - M_j)^2}{2f}$$

em que:

P_{if} : estimativa do parâmetro estabilidade do cultivar i para ambientes favoráveis;

Y_{ij} : produtividade ou concentrações de (proteína, sacarose, rafinose e estaquiose) do i-ésimo genótipo no j-ésimo ambiente;

M_j : resposta máxima ou mínima observada entre todos os genótipos no ambiente j;

f : número de ambientes favoráveis

$$P_{id} = \frac{\sum_{j=1}^d (Y_{ij} - M_j)^2}{2d}$$

onde:

d: número de ambientes desfavoráveis.

O genótipo que apresentar o menor valor de P_i , terá a maior estabilidade.

3.4.2. Método do Centróide (Rocha *et al.* 2005)

Este método foi desenvolvido visando facilitar a interpretação dos dados e a escolha do genótipo que mais se aproxima do ideal. Primeiramente, admite a existência de sete referenciais ou ideótipos e através de técnicas de agrupamento, baseada em distâncias aos ideótipos, procura classificar os diferentes genótipos estudados. Os ideótipos foram definidos com base nos dados experimentais, conforme apresentado a seguir:

Ideótipos I: apresenta adaptabilidade geral máxima, tendo os máximos valores observados em todos os ambientes.

Ideótipo II: tem máxima adaptabilidade específica a ambiente favorável, apresentando máxima resposta em ambiente favorável e mínima a ambiente desfavorável.

Ideótipo III: possui máxima adaptabilidade específica a ambiente desfavorável, apresentando máxima resposta em ambiente desfavorável e mínima em ambiente favorável.

Ideótipo IV: possui mínima adaptabilidade, apresentando mínimos valores observados em todos os ambientes.

Ideótipo V: possui média adaptabilidade geral, cujos valores, em cada ambiente, são representados pelas médias obtidas pelo conjunto de cultivares estudado.

Ideótipo VI: possui média adaptabilidade específica a ambientes favoráveis, cujos valores, nos ambientes favoráveis, são representados pelos máximos e, nos desfavoráveis, pelas médias obtidas pelo conjunto de cultivares estudado.

Ideótipo VII: possui média adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis, cujos valores, nos ambientes favoráveis, são representados pelas médias e, nos desfavoráveis, pelos máximos obtidos pelo conjunto de cultivares estudado.

O seguinte índice foi utilizado para classificar os ambientes em favoráveis ou desfavoráveis:

$$I_j = \frac{1}{g} \sum_i Y_{ij} - \frac{1}{ag} Y_{..}$$

em que:

Y_{ij} - é a média do genótipo i , no ambiente j ;

$Y_{..}$ - é o total das observações;

a - é o número de ambientes;

g - é o número de genótipos.

Após a classificação dos ambientes, foram gerados pontos referenciais, os ideótipos de resposta diferenciada a ambientes favoráveis e desfavoráveis, visando à classificação dos outros pontos do gráfico, considerando os valores de distância cartesiana entre os pontos a cada um dos sete ideótipos. Uma medida de probabilidade espacial pode ser calculada utilizando o inverso da distância entre um tratamento aos sete ideótipos.

$$P_{d(i,k)} = \frac{\left(\frac{1}{d_{ik}} \right)}{\sum_i \frac{1}{d_{ik}}}$$

$P_{d(i|k)}$ - é a probabilidade de apresentar padrão de estabilidade semelhante ao k -ésimo centróide e;

d_{ik} - é a distância do i -ésimo genótipo ao k -ésimo centróide.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Resumo da análise de variância

O estudo da interação genótipo x ambiente é uma valiosa ferramenta da genética para otimizar a escolha dos melhores genótipos em determinados ambientes. Os resultados da análise de variância para produtividade (Kg ha^{-1}) avaliando os efeitos de genótipo, de ambiente e da interação genótipo x ambiente são apresentados na Tabela 3. A significância destes efeitos pelo teste F ($p < 0,01$) ou ($p < 0,05$) indica a ação de fatores genéticos (variabilidade genética), ambientais e a interação destes na determinação da produtividade entre os genótipos avaliados nos diferentes ambientes. A significância da interação genótipo x ambiente traduz o comportamento diferencial dos genótipos em razão das variações sistemáticas e casuais do ambiente. A importância de se avaliar a existência desta interação reside na possibilidade de o melhor genótipo em um ambiente, não o ser em outro, fator que influencia no processo de seleção em programas de melhoramento genético e dificulta a recomendação de cultivares (CRUZ *et al*, 2004).

Tabela 3 - Análise de variância conjunta para produtividade (Kg ha^{-1}), e para as concentrações de proteína, sacarose, rafinose e estaquiose (%), avaliadas em 18 genótipos de soja cultivados em quatro localidades (Perdizes-MG, São Gotardo-MG, Presidente Olegário-MG e Mineiros-GO)

FV	GL	QM				
		Produtividade	Proteína	Sacarose	Rafinose	Estaquiose
Bloco	2	-	-	-	-	-
Genótipo	17	2406474,03**	16,41**	0,795**	0,064*	0,106 ^{ns}
Ambiente	3	31655765,11**	136,07**	88,736**	3,643**	93,497**
GxA	51	397136,18**	3,15**	0,344**	0,029**	0,234**
Resíduo	136	-	-	-	-	-
Média Geral		3.101,66	42,456	4,13	1,04	2,67
CV (%)		12,306	1,801	3,62	6,109	5,341
Relação QMR (Maior/Menor)		3,53	5,253	6,61	2,38	1,84

* e ** significativo a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F.

^{ns} não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

De acordo com YAN (2002), as variações na produtividade de genótipos em diferentes ambientes acontecem principalmente por efeitos ambientais, os quais geralmente explicam 80% ou mais do total das variações na produção, sendo os efeitos genéticos e de interação usualmente menores. No entanto, os efeitos genéticos e da interação são extremamente importantes nas avaliações dos genótipos, os mesmos devem ser considerados juntos na seleção dos genótipos.

Na Tabela 3 está apresentado o resumo da análise de variância conjunta avaliando os efeitos de genótipo, de ambiente e da interação genótipo x ambiente considerando a concentração de proteína. Foi observada, variação significativa a 1% de probabilidade pelo teste F, para o efeito do genótipo, de ambiente e da interação genótipo x ambiente. Este fato evidencia diferenças marcantes entre genótipos e ambientes, o que indica existência de variabilidade genética. Assim como a existência de diferenças genéticas entre os genótipos quanto à resposta desses às variações ambientais.

A análise de variância conjunta testando os efeitos de genótipo, de ambiente e da interação genótipo x ambiente para concentração de sacarose, rafinose e estaquiose estão apresentados na Tabela 3. O efeito de genótipo foi significativo a 1 % de probabilidade para as concentrações de sacarose e rafinose. Para concentração de estaquiose não foi detectado efeito genotípico significativo, indicando ausência de variabilidade genética entre os genótipos avaliados. Para os efeitos de ambiente e da interação genótipo x ambiente observa-se existência de diferenças altamente significativas ($P < 0,01$), referente às concentrações de sacarose, rafinose e estaquiose.

Segundo CRUZ *et al.* (2004), estudos a respeito da interação genótipo x ambiente, apesar de serem de grande importância para o melhoramento, não proporcionam informações precisas sobre o comportamento de cada genótipo frente às variações ambientais. Para tal objetivo, é recomendado utilizar uma gama de procedimentos biométricos denominados de análise de adaptabilidade e estabilidade, pelas quais se torna possível a identificação de cultivares de comportamento previsível e responsivos às variações ambientais em condições específicas ou amplas. Portanto, em função do interesse de estudar a influência da interação sobre a produtividade de grãos nas variedades estudadas, realizaram-se as análises de adaptabilidade e estabilidade nos ambientes estudados.

Ainda na Tabela 3, podem ser observados os valores do coeficiente de variação (CV) obtido para todas as variáveis (produtividade, proteína, sacarose, rafinose e estaquiose). Pelos resultados obtidos verifica-se que há boa precisão experimental, estando

os valores concordantes com aqueles obtidos em outros trabalhos (PIOVESAN, 2000; MELO, 2002; NAOE, 2004).

4.2. Análise de adaptabilidade e estabilidade segundo a metodologia de Lin e Binns (1988) modificado por Carneiro (1998)

Na análise conforme a metodologia de Lin e Binns (1988), cujos resultados para produtividade são apresentados na Tabela 4, o desempenho do genótipo é determinado segundo a estatística P_i . Nesse sentido, quanto menor for o seu valor, maior será a adaptabilidade e estabilidade do genótipo em questão.

CARNEIRO (1998) propôs uma adaptação para o método, permitindo determinar o desempenho dos genótipos em ambientes específicos, ou seja, ambientes favoráveis e desfavoráveis. Na Figura 5, observa-se a representação gráfica da adaptabilidade e estabilidade das cultivares e linhagens em ambiente geral, favorável e desfavorável, segundo a metodologia de Lin e Binns (1988) modificada por Carneiro (1998).

Para uma resposta geral aos ambientes estudados, os genótipos tenderam a apresentar melhores resultados de acordo com a sua média geral de produção de grãos, evidenciando a característica do parâmetro P_i ser calculado pela distância do genótipo avaliado em relação ao melhor desempenho, dentro de cada ambiente. As cultivares VENCEDORA e MSOY 8001 foram as que apresentaram as melhores médias de produção geral e também os menores valores de P_i geral (menor P_i expressa maior adaptabilidade e estabilidade).

Na análise pelo o método de Lin & Binns (1988) modificado por Carneiro (1998), genótipos mais estáveis são os que apresentam menores valores de P_i geral, isto é, os genótipos que apresentam os menores desvios em relação à máxima produtividade de cada ambiente; os mais responsivos à melhoria dos ambientes são aqueles com menores valores de P_i favorável (P_{if}); e os mais adaptados a ambientes desfavoráveis são aqueles com menores valores de P_i desfavorável (P_{id}). Portanto, merecem destaque positivo as cultivares VENCEDORA e MSOY 8001 e a linhagem CS 02 302 (Tabela 4). As quais apresentaram os melhores desempenhos, quando foram considerados todos os ambientes (adaptabilidade geral).

Para condições específicas de ambiente, destacaram-se, ainda, a cultivar LUZIANIA e a linhagem CS 01 736 para ambientes desfavoráveis, e as linhagens CS 02 564 e CS 801, para ambientes favoráveis. A linhagem CS 02 1026 e a cultivar ELITE merecem destaque negativo, em razão de terem apresentado médias baixas de produtividade de grãos, nos quatro ambientes avaliados.

Tabela 4- Parâmetros de estabilidade e adaptabilidade estimados segundo a metodologia de Lin e Binns (1988) Modificada por Carneiro (1998). Considerando a variável produtividade para 18 genótipos, avaliados em quatro Ambientes (Perdizes-MG, São Gotardo-MG, Presidente Olegário-MG e Mineiros-GO)

Genótipo	Produtividade (Kg ha ⁻¹)	Pi geral	Genótipo	Pi favorável	Genótipo	Pi desfavorável
18- VENCEDORA	3849,81	77695,76	18- VENCEDORA	149226,40	18-VENCEDORA	6165,12
17- MSOY 8001	3657,59	126841,39	17- MSOY 8001	193929,43	17- MSOY 8001	59753,38
14- CS 02 302	3639,81	151086,17	14- CS 02 302	199841,78	14- CS 02 302	10233,56
16- CS 801	3329,07	302999,13	3- CS 02 564	211553,05	9- LUZIANIA	139129,43
3- CS 02 564	3323,33	327733,35	16- CS 801	422324,62	1- CS 01 736	152571,28
9- LUZIANIA	3316,11	419163,16	5- CS 02 731	503566,24	16- CS 801	183673,63
15- CS 821	3235,74	426655,02	15- CS 821	628224,80	15- CS 821	225085,24
13- CS 02 521	3233,15	479007,60	10- MONARCA	631358,15	13- CS 02 521	251367,01
1- CS 01 736	3200,37	481678,52	9- LUZIANIA	699196,89	2- CS 02 884	386354,37
5- CS 02 731	3100,92	501174,423	13- CS 02 521	706648,20	4- CS 02 449	394247,61
10- MONARCA	3036,29	58649,20	1- CS 01 736	810785,76	3- CS 02 564	443913,66
2- CS 02 884	3048,14	686317,653	2- CS 02 884	98628,93	5- CS 02 731	498782,60
4- CS 02 449	2977,22	909249,45	6- CS 01 873	1024543,77	10- MONARCA	541622,24
7- CS 02 988	2904,44	975765,91	7- CS 02 988	1064662,31	7- CS 02 988	753836,60
6- CS 01 873	2815,18	426655,02	4- CS 02 449	1108497,39	6- CS 01 873	926988,05
11- GARANTIA	2664,62	1123506,87	11- GARANTIA	1250807,66	11- GARANTIA	996206,08
8- CS 02 1026	2616,85	1205039,32	8- CS 02 1026	138635,40	8- CS 02 1026	1023728,24
12- ELITE	1881,29	2680272,46	12- ELITE	3510419,13	12- ELITE	1850125,79

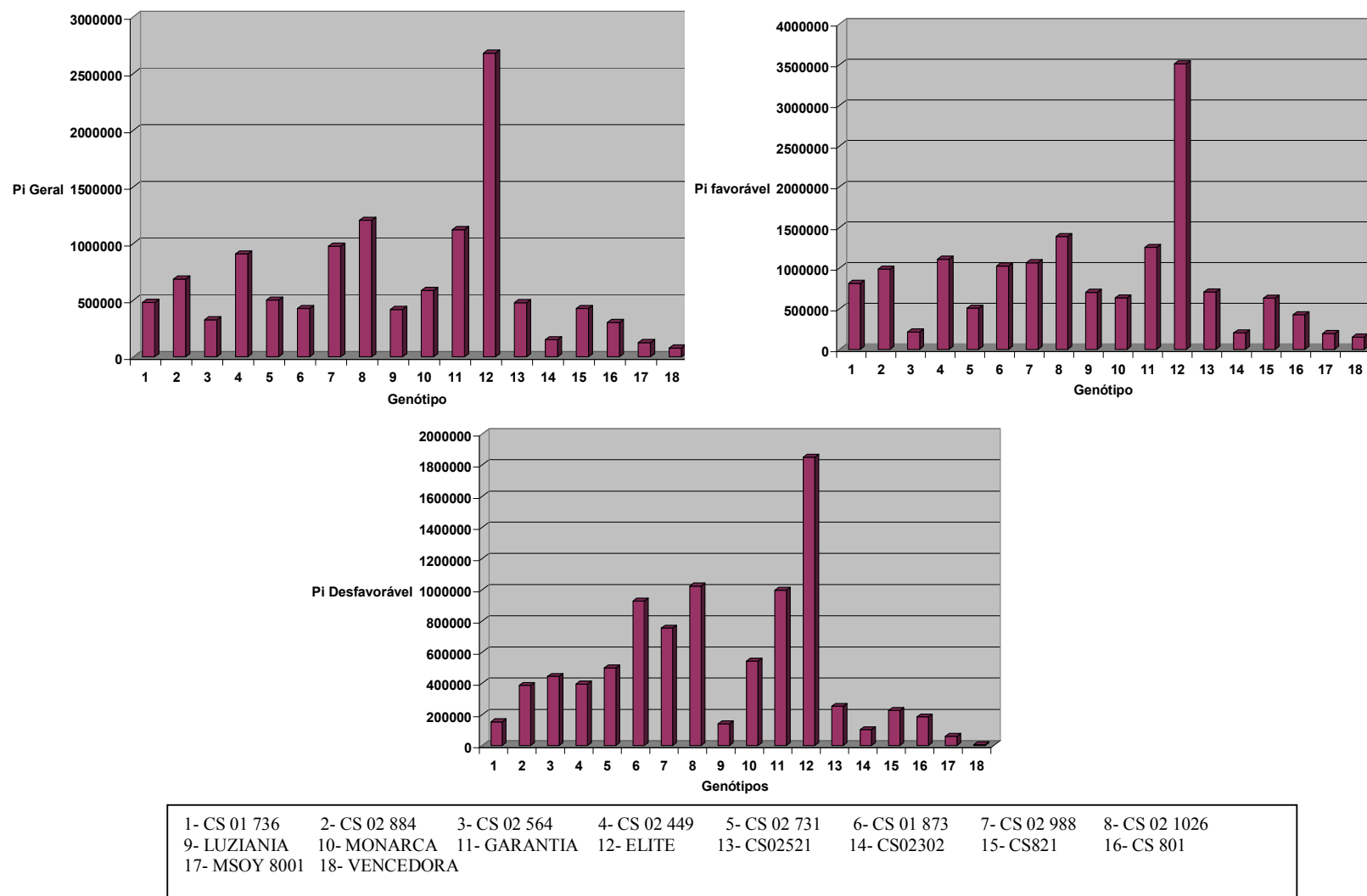


Figura 5 - Representação gráfica da adaptabilidade e estabilidade (Pi) da produção de grãos de 18 genótipos de soja em ambiente geral, favorável e desfavorável, segundo a metodologia de Lin e Binns (1988) modificada por Carneiro (1998)

As estimativas dos parâmetros de adaptabilidade e estabilidade segundo a metodologia proposta por Lin e Binns (1988) modificado por Carneiro (1998) para concentração de proteína de 18 genótipos avaliados em quatro ambientes estão apresentadas na Tabela 5.

Na Figura 6, está a representação gráfica da adaptabilidade e estabilidade das cultivares em ambiente geral, favorável e desfavorável, segundo a metodologia de Lin e Binns (1988) modificada por Carneiro (1998).

Observa-se na Tabela 5 que os genótipos tenderam a apresentar melhores resultados de acordo com a sua média geral da variável concentração de proteína, isso em função da resposta geral desses genótipos nos ambientes estudados. Nesse sentido os genótipos que apresentaram a melhor média geral para variável concentração de proteína e melhor desempenho nos ambientes testados (menor valor de P_i geral, P_i favorável e P_i desfavorável), foram as cultivares ELITE e MONARCA.

O presente trabalho indicou com base no índice P_i para os ambientes favoráveis a superioridade da linhagem CS 02 564, a qual se mostra muito responsiva a melhoria do ambiente. Verifica-se que a linhagem CS 02 564 saiu da sexta posição de P_i geral para terceira posição de P_i favorável, o mesmo não acontece em ambientes desfavoráveis, onde essa linhagem apresentou desempenho baixo. As cultivares VENCEDORA, MSOY 8001 e a linhagem CS 02 521, apresentaram os desempenhos mais baixos em todos os ambientes.

Dois genótipos mereceram destaque positivo, considerando simultaneamente a variável produtividade (Tabela 4), e a variável concentração de proteína (Tabela 5). A cultivar LUZIANIA e a linhagem CS 02 302, apresentaram excelente adaptabilidade e estabilidade nos ambientes testados, segundo o índice P_i , além de apresentarem alta produtividade e alta concentração de proteína. Alta concentração de proteína é um dos principais objetivos dos Programas de Melhoramento da Qualidade da Soja, que visa também o desenvolvimento de cultivares mais adaptadas, de melhor qualidade nutricional e na identificação de cultivares com baixas concentrações de fatores anti-nutricionais, como os oligossacarídeos de rafinose. Além é claro, da máxima produtividade, que é objetivo comum de todo programa de melhoramento.

Tabela 5- Parâmetros de estabilidade e adaptabilidade estimados segundo a metodologia de Lin e Binns (1988) Modificada por Carneiro (1998). Considerando a concentração de proteína para 18 genótipos avaliados em quatro Ambientes (Perdizes-MG, São Gotardo-MG, Presidente Olegário-MG e Mineiros-GO)

Proteína (%)						
Genótipo	Média	<i>Pi</i> geral	Genótipo	<i>Pi</i> favorável	Genótipo	<i>Pi</i> desfavorável
12- ELITE	44,49	0,03	12- ELITE	0,04	12- ELITE	0,02
10- MONARCA	43,78	0,57	10- MONARCA	1,03	10- MONARCA	0,10
9- LUZIANIA	43,43	0,87	3- CS 02 564	1,10	14- CS 02 302	0,25
14- CS 02 302	43,61	0,99	9- LUZIANIA	1,27	9- LUZIANIA	0,47
2- CS 02 884	43,22	1,33	5- CS 02 731	1,32	2- CS 02 884	0,81
3- CS 02 564	42,86	1,72	7- CS 02 988	1,68	11- GARANTIA	0,97
11- GARANTIA	43,16	1,78	4- CS 02 449	1,68	1- CS 01 736	1,15
6- CS 01 873	42,68	1,99	6- CS 01 873	1,71	15- CS 821	1,75
7- CS 02 988	42,68	2,02	14- CS 02 302	1,72	6- CS 01 873	2,26
1- CS 01 736	42,74	2,04	2- CS 02 884	1,86	3- CS 02 564	2,35
5- CS 02 731	42,67	2,30	8- CS 02 1026	2,56	7- CS 02 988	2,35
15- CS 821	42,46	3,41	11- GARANTIA	2,59	5- CS 02 731	3,28
8- CS 02 1026	41,63	5,07	1- CS 01 736	2,93	16- CS 801	4,49
4- CS 02 449	41,64	5,36	15- CS 821	5,06	18- VENCEDORA	5,912
16- CS 801	41,63	5,85	16- CS 801	7,20	13- CS 02 521	6,90
13- CS 02 521	40,69	8,07	13- CS 02 521	9,23	8- CS 02 1026	7,57
18- VENCEDORA	40,62	8,81	18- VENCEDORA	11,72	17- MSOY 8001	8,06
17- MSOY 8001	40,20	10,26	17- MSOY 8001	12,46	4- CS 02 449	9,03

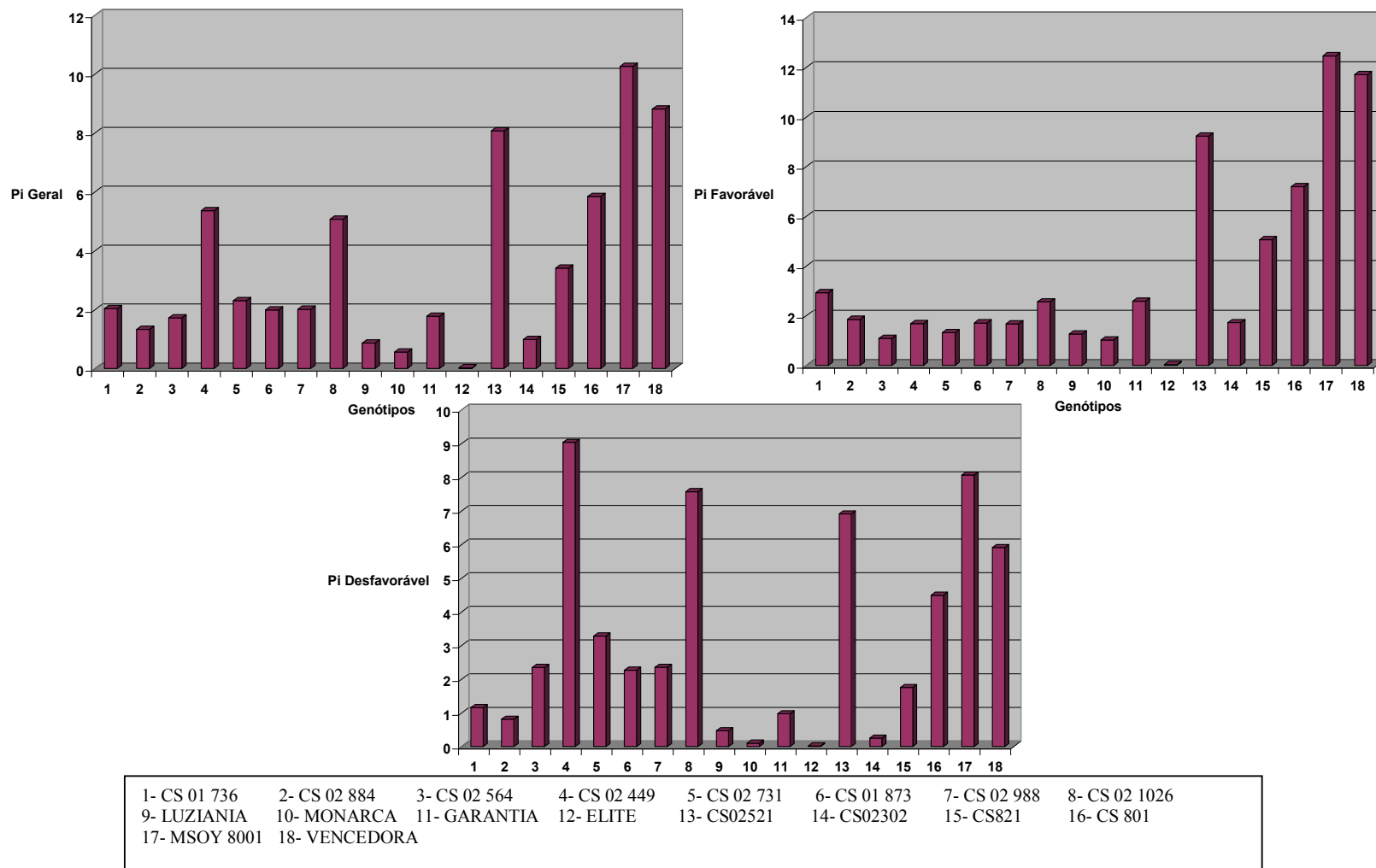


Figura 6 - Representação gráfica da adaptabilidade e estabilidade (Pi) da variável concentração de proteína de 18 genótipos de soja em ambiente geral, favorável e desfavorável, segundo a metodologia de Lin e Binns (1988) modificada por Carneiro (1998)

Na Tabela 6 estão apresentados os valores da variável concentração de sacarose e as estimativas dos parâmetros de adaptabilidade e estabilidade segundo a metodologia de Lin e Binns modificada por Carneiro (1998), das cultivares e linhagens de soja avaliadas em quatro ambientes. Como mencionado, essa metodologia descreve que a *performance* genotípica é estimada pelo parâmetro (P_i), o qual se relaciona à distância da cultivar avaliada à melhor cultivar, de modo que quanto menor o seu valor, maior será a adaptabilidade e estabilidade de comportamento da cultivar ou linhagem.

Na Figura 7, observa-se a representação da adaptabilidade e estabilidade das cultivares e linhagens em ambiente geral, favorável e desfavorável, segundo a metodologia de Lin e Binns (1988) modificada por Carneiro (1998).

A linhagem CS 01 736 e cultivar MSOY 8001 foram as que apresentaram as maiores concentrações de sacarose. As mesmas apresentaram um desempenho superior em relação aos outros genótipos, ou seja, estabilidade e adaptabilidade a ambiente geral (menores valores de P_i geral).

O índice P_i para os ambientes favoráveis indica a superioridade da linhagem CS 01 736 e da cultivar MSOY 8001 em função do seu destacado valor de P_i favorável em relação às demais genótipos. Outros genótipos que se sobressaíram foram às linhagens CS 02 731 e CS 02 449, as quais responderam muito bem a melhoria do ambiente.

As linhagens CS 02 521 e CS 801, que no P_i geral e desfavorável estão na terceira e quarta posição, respectivamente, não mantiveram o mesmo desempenho em ambiente favorável, os quais ocupam a quinta e a décima primeira posição na classificação do P_i favorável (Tabela 6). Sendo assim, essas linhagens não são recomendadas para o plantio nos ambientes estudados, pois não apresentaram comportamento previsível e não responderam a melhoria do ambiente.

Um genótipo que merece destaque é a cultivar MSOY 8001, que apresentou um desempenho superior em relação aos outros genótipos. Esta cultivar apresentou estabilidade e adaptabilidade ampla (menor valor de P_i geral, P_i favorável e P_i desfavorável), além de apresentar alta produtividade e alta concentração de sacarose. No entanto, apresentou a menor média geral para concentração de proteína.

As doze cultivares restantes não apresentaram grandes diferenças comparando-se à resposta ao índice geral, portanto, com poucas alterações em relação à referida na indicação para o P_i geral. A linhagem CS 01 873 e a cultivar GARANTIA apresentaram as menores concentrações de sacarose e os mais baixos desempenhos em todos os ambientes considerados.

Tabela 6- Parâmetros de estabilidade e adaptabilidade estimados segundo a metodologia de Lin e Binns (1988) Modificada por Carneiro (1998). Considerando a concentração de sacarose para 18 genótipos, avaliados em quatro Ambientes (Perdizes-MG, São Gotardo-MG, Presidente Olegário-MG e Mineiros-GO)

Sacarose (%)						
Genótipo	Média	<i>Pi</i> geral	Genótipo	<i>Pi</i> favorável	Genótipo	<i>Pi</i> desfavorável
1- CS 01 736	4,61	0,08	17- MSOY 8001	0,003	1- CS 01 736	0,140
17- MSOY 8001	4,49	0,10	1- CS 01 736	0,012	17- MSOY 8001	0,202
13- CS 02 521	4,40	0,13	5- CS 02 731	0,036	13- CS 02 521	0,213
16- CS 801	4,36	0,20	4- CS 02 449	0,039	16- CS 801	0,215
4- CS 02 449	4,32	0,28	13- CS 02 521	0,047	15- CS 821	0,406
15- CS 821	4,07	0,33	10- MONARCA	0,083	14- CS 02 302	0,475
9- LUZIANIA	4,12	0,34	9- LUZIANIA	0,095	4- CS 02 449	0,515
10- MONARCA	4,20	0,35	12- ELITE	0,133	9- LUZIANIA	0,592
14- CS 02 302	4,05	0,36	7- CS 02 988	0,141	10- MONARCA	0,609
5- CS 02 731	4,31	0,36	2- CS 02 884	0,158	5- CS 02 731	0,688
12- ELITE	4,08	0,43	16- CS 801	0,196	12- ELITE	0,722
7- CS 02 988	4,00	0,48	18- VENCEDORA	0,225	8- CS 02 1026	0,798
8- CS 02 1026	3,94	0,52	14- CS 02 302	0,239	7- CS 02 988	0,825
2- CS 02 884	3,94	0,54	8- CS 02 1026	0,249	2- CS 02 884	0,917
18- VENCEDORA	3,99	0,65	15- CS 821	0,258	3- CS 02 564	0,989
3- CS 02 564	3,77	0,69	6- CS 01 873	0,294	18- VENCEDORA	1,070
6- CS 01 873	3,74	0,73	11- GARANTIA	0,353	6- CS 01 873	1,164
11- GARANTIA	3,73	0,79	3- CS 02 564	0,385	11- GARANTIA	1,238

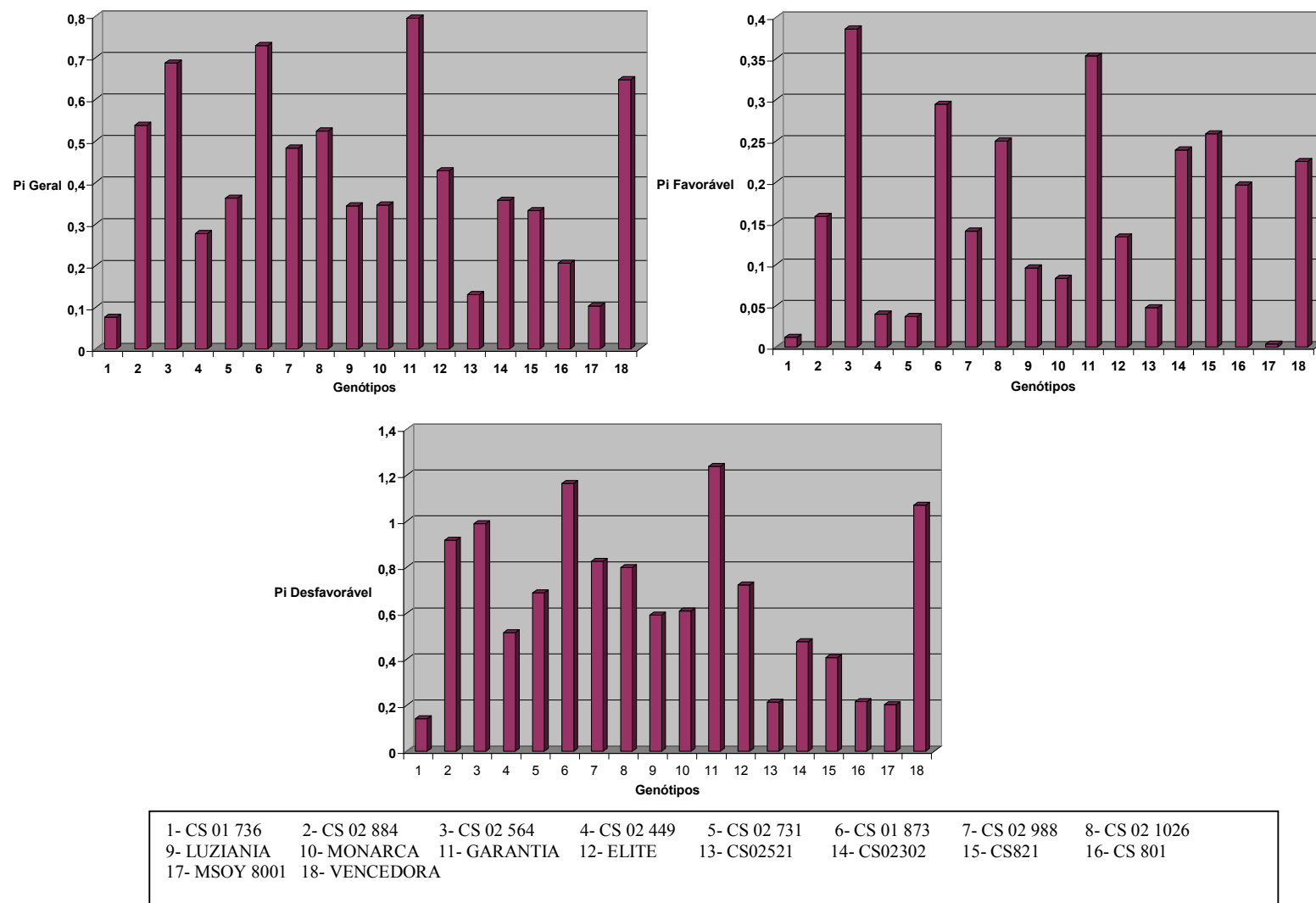


Figura 7 - Representação gráfica da adaptabilidade e estabilidade (Pi) da variável concentração de sacarose de 18 genótipos de soja em ambiente geral, favorável e desfavorável, segundo a metodologia de Lin e Binns (1988) modificada por Carneiro (1998)

Na Tabela 7 estão apresentados os valores médios da concentração de rafinose, Pi geral, Pi favorável e Pi desfavorável, para os parâmetros de adaptabilidade e estabilidade segundo a metodologia de Lin e Binns, modificado por Carneiro (1998). Na (Figura 8), observa-se a representação da adaptabilidade e estabilidade das cultivares e linhagens em ambiente geral, favorável e desfavorável, segundo a metodologia de Lin e Binns (1988) modificada por Carneiro (1998).

As linhagens CS 02 731 e CS 02 988 foram as que apresentaram as maiores concentrações de rafinose. As mesmas apresentaram um desempenho superior em relação aos outros genótipos, ou seja, estabilidade e adaptabilidade a ambiente geral (menores valores de Pi geral).

O índice Pi para os ambientes favoráveis indica a superioridade das linhagens CS 02 731 e CS 02 988 em função do seu destacado valor de Pi geral, Pi favorável e Pi desfavorável em relação às demais cultivares. Porém essas linhagens apresentaram conteúdo alto de rafinose em relação aos outros genótipos.

Altas concentrações de rafinose não são desejáveis quando se busca agregar maior qualidade nutricional aos grãos de soja em um programa de melhoramento. No Programa de Melhoramento de Qualidade da Soja (PMQS – BIOAGRO/UFV), objetiva-se a redução de fatores antinutricionais presentes no grão de soja, como a rafinose, sem comprometer o crescimento, produtividade e qualidade do grão de soja. A rafinose faz parte de uma classe de oligossacarídeos (RO) considerados fatores antinutricionais, pois são causadores de flatulência. Por esse motivo cultivares de soja com baixa concentração de rafinose são mais interessantes tanto como genitores para Programas de Melhoramento da Qualidade da Soja, assim como para uso direto na alimentação de humanos e de animais monogástricos (De PAULA, 2007).

Para condições específicas de ambiente a linhagem CS 01 873 e cultivar ELITE, que no Pi geral e favorável está na décima terceira e décima quarta posição, respectivamente, superou quase todos os outros genótipos, ficando em uma posição de destaque em ambientes desfavorável (Tabela 7). Essa adaptabilidade específica da linhagem CS 01 873 e da cultivar ELITE em ambientes desfavoráveis demonstra o grande potencial desses genótipos como possíveis genitores para o Programa de Melhoramento de Qualidade da Soja (PMQS – BIOAGRO/UFV). Apesar desses genótipos não apresentarem uma estabilidade ampla em todos os ambientes (Pi geral, Pi favorável e Pi desfavorável), eles apresentaram boa adaptabilidade específica à ambientes desfavoráveis. Sendo assim esses genótipos merecem destaque, principalmente pela baixa concentração de rafinose, o que

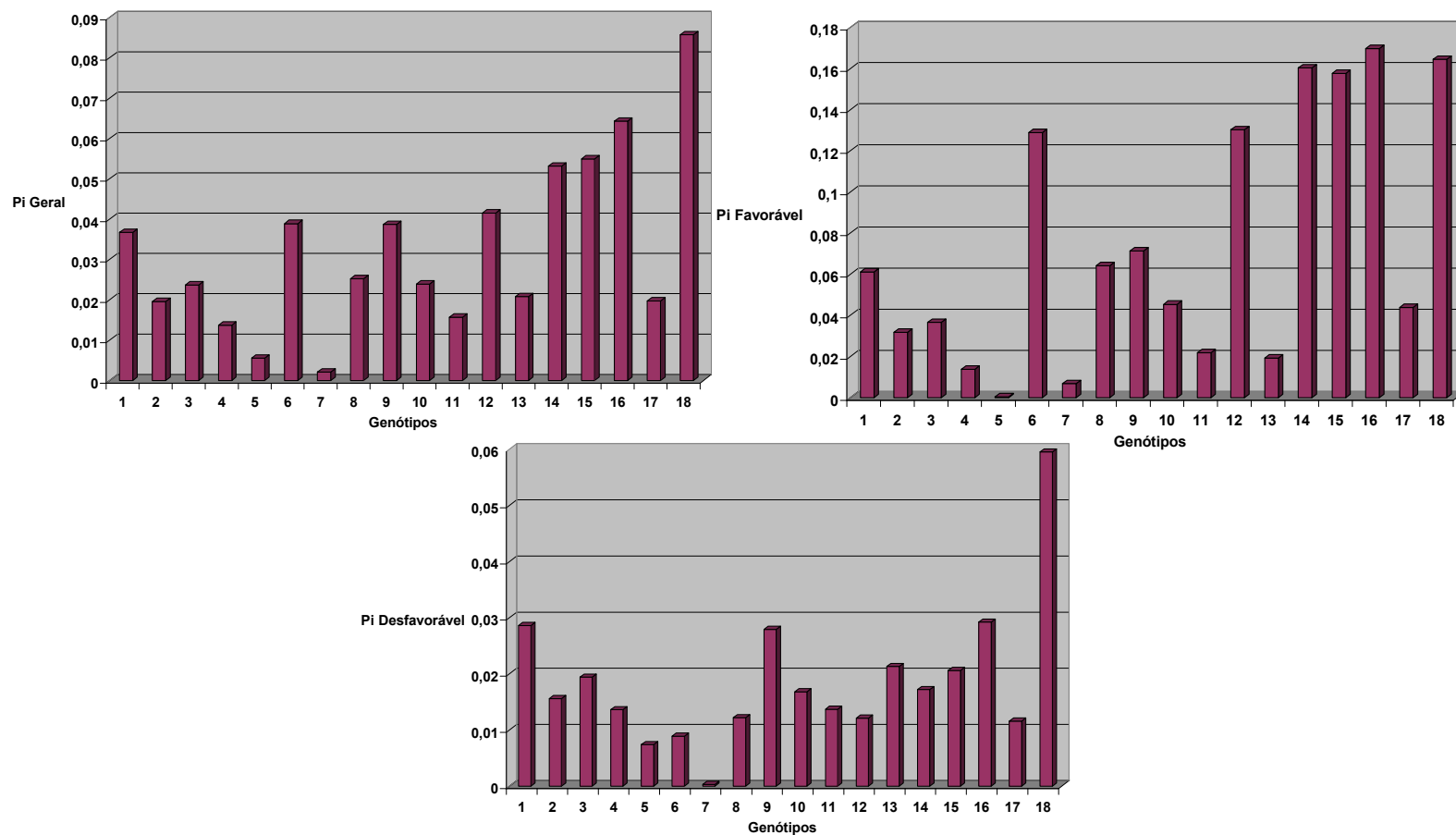
potencializa a utilização direta desses genótipos na alimentação humana e de animais monogástricos.

Outro genótipo que merece destaque é a linhagem CS 02 302, principalmente por apresentar baixa concentração de rafinose, além de apresentar alta produtividade (Tabela 4) e alta concentração de proteína (Tabela 5).

CHEN e BUSS, (2004) analisando diferentes linhagens de soja, em relação a sua composição de açúcares, encontraram valores de 0,1% a 2,1% na concentração de rafinose. Enquanto que De REZENDE (1998) encontrou variação de 0,67 a 1,84 % na concentração de rafinose.

Tabela 7 - Parâmetros de estabilidade e adaptabilidade estimados segundo a Metodologia de Lin e Binns (1988) Modificada por Carneiro (1998). Considerando a concentração de rafinose para 18 genótipos, avaliados em quatro Ambientes (Perdizes-MG, São Gotardo-MG, Presidente Olegário-MG e Mineiros-GO)

Rafinose (%)						
Genótipo	Média	Pi geral	Genótipo	Pi favorável	Genótipo	Pi desfavorável
7- CS 02 988	1,22	0,002	5- CS 02 731	0,0004	7- CS 02 988	0,0003
5- CS 02 731	1,19	0,005	7- CS 02 988	0,0068	5- CS 02 731	0,0074
4- CS 02 449	1,13	0,013	4- CS 02 449	0,0138	6- CS 01 873	0,0089
11- GARANTIA	1,12	0,015	13- CS 02 521	0,0192	17- MSOY 8001	0,0116
2- CS 02 884	1,08	0,019	11- GARANTIA	0,0218	12- ELITE	0,0120
17- MSOY 8001	1,08	0,019	2- CS 02 884	0,0318	8- CS 02 1026	0,0122
13- CS 02 521	1,06	0,020	3- CS 02 564	0,0366	4- CS 02 449	0,0136
3- CS 02 564	1,05	0,023	17- MSOY 8001	0,0439	11- GARANTIA	0,0137
10- MONARCA	1,06	0,023	10- MONARCA	0,0454	2- CS 02 884	0,0156
8- CS 02 1026	1,06	0,025	1- CS 01 736	0,0611	10- MONARCA	0,0168
1- CS 01 736	1,03	0,036	8- CS 02 1026	0,0642	14- CS 02 302	0,0172
9- LUZIANIA	1,01	0,038	9- LUZIANIA	0,0713	3- CS 02 564	0,0194
6- CS 01 873	1,04	0,038	6- CS 01 873	0,1289	15- CS 821	0,0206
12- ELITE	1,02	0,041	12- ELITE	0,1302	13- CS 02 521	0,0213
14- CS 02 302	0,98	0,053	15- CS 821	0,1577	9- LUZIANIA	0,0279
15- CS 821	0,99	0,054	14- CS 02 302	0,1604	1- CS 01 736	0,0286
16- CS 801	0,94	0,064	18- VENCEDORA	0,1645	16- CS 801	0,0292
18- VENCEDORA	0,89	0,085	16- CS 801	0,1698	18- VENCEDORA	0,0595



1- CS 01 736	2- CS 02 884	3- CS 02 564	4- CS 02 449	5- CS 02 731	6- CS 01 873	7- CS 02 988	8- CS 02 1026
9- LUZIANIA	10- MONARCA	11- GARANTIA	12- ELITE	13- CS02521	14- CS02302	15- CS821	16- CS 801
17- MSOY 8001	18- VENCEDORA						

Figura 8 - Representação gráfica da adaptabilidade e estabilidade (Pi) da variável concentração de rafinose de 18 genótipos de soja em ambiente geral, favorável e desfavorável, segundo a metodologia de Lin e Binns (1988) modificada por Carneiro (1998)

As estimativas dos parâmetros de estabilidade e adaptabilidade, segundo a metodologia de Lin e Binns (1988) modificada por Carneiro (1998), considerando a concentração de estaquiose, são mostradas na Tabela 8.

Na Figura 9 observa-se a representação gráfica da adaptabilidade e estabilidade das cultivares e linhagens em ambiente geral, favorável e desfavorável, segundo a metodologia de Lin e Binns (1988) modificada por Carneiro (1998). O método revelou que a cultivar MSOY 8001 e as linhagens CS 02 521 e a CS 801 foram as que apresentaram as maiores concentrações de estaquiose. Essas mesmas linhagens obtiveram desempenho superior em relação aos outros genótipos, ou seja, estabilidade e adaptabilidade a ambiente geral (menores valores de P_i geral).

Porém apenas a cultivar MSOY 8001 apresentou um desempenho superior em relação aos outros genótipos, ou seja, estabilidade e adaptabilidade ampla (P_i favorável e P_i desfavorável), isso nos quatro ambientes avaliados. As linhagens CS 02 521 e a CS 801 que ocupavam as primeiras posições na classificação dos P_i 's gerais e dos P_i 's desfavoráveis, não apresentaram o mesmo desempenho nos ambientes favoráveis, caindo para sexta e décima quinta posição na classificação dos P_i 's favoráveis.

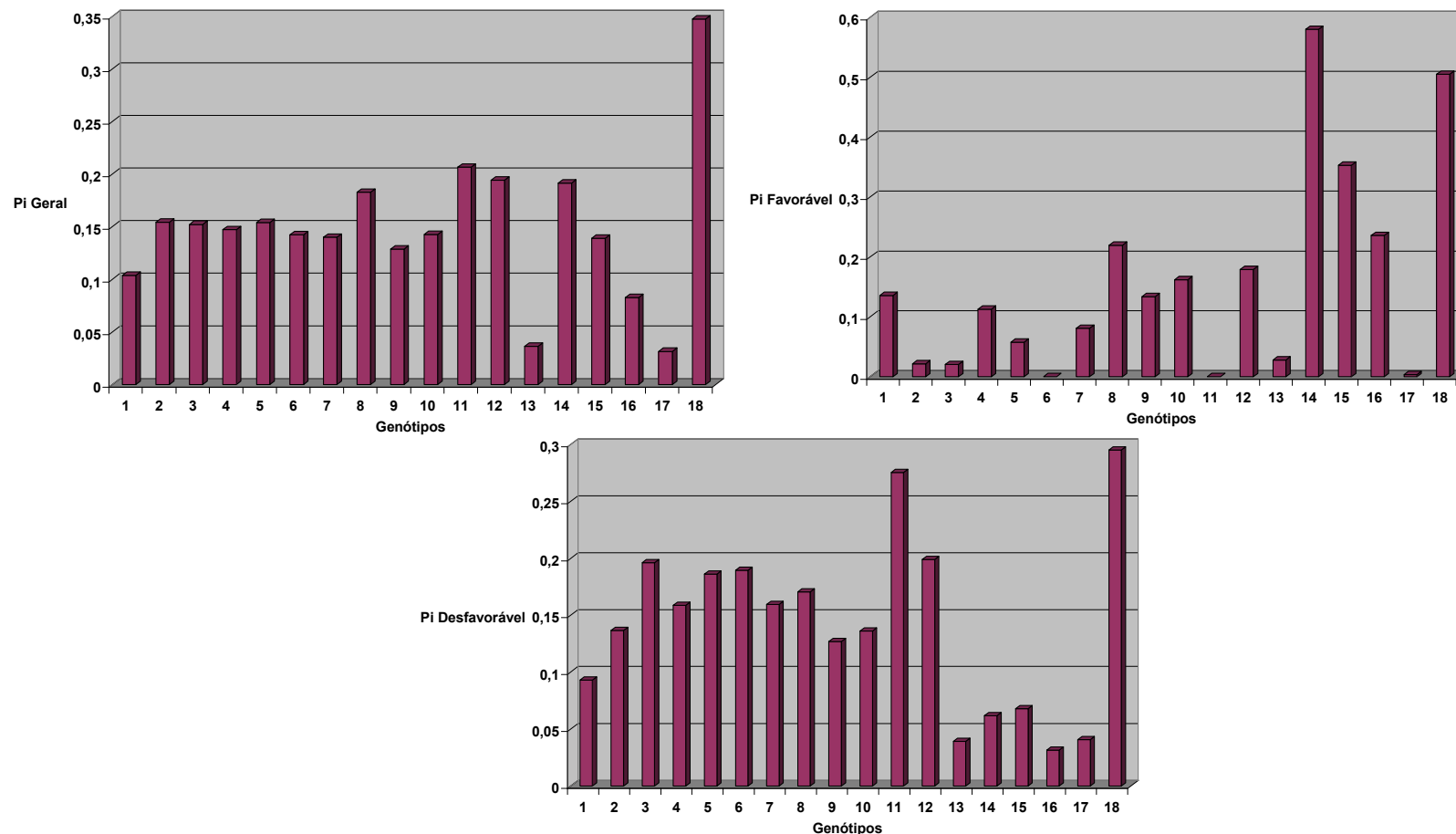
TRUGO *et al.* (1995), analisando o conteúdo de oligossacarídeos de cultivares de soja distribuídos no Brasil, encontraram variação na concentração de estaquiose de 3,2 a 4,6 %, enquanto De REZENDE (1998) encontrou variação de 2,10 a 6,71 % nas concentrações de estaquiose nas linhagens de soja analisadas.

Comparando os resultados obtidos no presente trabalho com os dados da literatura, os genótipos de soja analisados apresentaram menor concentração de estaquiose. Essa característica é muito importante na seleção de cultivares, como genitores para em Programas de Melhoramento da Qualidade da Soja, assim como para uso direto na alimentação de humanos e animais monogástricos, visto que a estaquiose é o RO mais abundante em grãos de soja e representa um fator antinutricional (De PAULA, 2007).

Nesse contexto a cultivar GARANTIA merece destaque, pois, apresentou a segunda menor concentração estaquiose. Além disso, a cultivar GARANTIA respondeu muito bem a melhoria do ambiente, saindo da décima sétima posição na classificação do P_i geral e P_i desfavorável, apresentando o melhor desempenho de todos os genótipos avaliados no ambiente favorável (P_i favorável).

Tabela 8 - Parâmetros de estabilidade e adaptabilidade estimados segundo a Metodologia de Lin e Binns (1988) Modificada por Carneiro (1998). Considerando a concentração de estaquiose para 18 genótipos, avaliados em quatro Ambientes (Perdizes-MG, São Gotardo-MG, Presidente Olegário-MG e Mineiros-GO)

Estaquiose (%)						
Genótipo	Média	Pi geral	Genótipo	Pi favorável	Genótipo	Pi desfavorável
17- MSOY 8001	2,87	0,031	11- GARANTIA	0,0000	16- CS 801	0,031
13- CS 02 521	2,84	0,036	6- CS 01 873	0,0001	13- CS 02 521	0,039
16- CS 801	2,78	0,082	17- MSOY 8001	0,0036	17- MSOY 8001	0,040
1- CS 01 736	2,72	0,103	3- CS 02 564	0,0202	14- CS 02 302	0,061
2- CS 02 884	2,76	0,154	2- CS 02 884	0,0215	15- CS 821	0,067
9- LUZIANIA	2,63	0,128	13- CS 02 521	0,0278	1- CS 01 736	0,093
15- CS 821	2,61	0,139	5- CS 02 731	0,0576	9- LUZIANIA	0,127
7- CS 02 988	2,59	0,139	7- CS 02 988	0,0808	10- MONARCA	0,136
6- CS 01 873	2,70	0,142	4- CS 02 449	0,1125	2- CS 02 884	0,136
10- MONARCA	2,70	0,142	9- LUZIANIA	0,1336	4- CS 02 449	0,158
4- CS 02 449	2,59	0,147	1- CS 01 736	0,1355	7- CS 02 988	0,159
3- CS 02 564	2,65	0,152	10- MONARCA	0,1617	8- CS 02 1026	0,170
5- CS 02 731	2,62	0,154	12- ELITE	0,1790	5- CS 02 731	0,186
8- CS 02 1026	2,55	0,182	8- CS 02 1026	0,2191	6- CS 01 873	0,189
14- CS 02 302	2,57	0,191	16- CS 801	0,2358	3- CS 02 564	0,196
12- ELITE	2,59	0,194	15- CS 821	0,3528	12- ELITE	0,199
11- GARANTIA	2,66	0,20	18- VENCEDORA	0,5047	11- GARANTIA	0,275
18- VENCEDORA	2,43	0,3474	14- CS 02 302	0,5796	18- VENCEDORA	0,295



1- CS 01 736	2- CS 02 884	3- CS 02 564	4- CS 02 449	5- CS 02 731	6- CS 01 873	7- CS 02 988	8- CS 02 1026
9- LUZIANIA	10- MONARCA	11- GARANTIA	12- ELITE	13- CS02521	14- CS02302	15- CS821	16- CS 801
17- MSOY 8001	18- VENCEDORA						

Figura 9 - Representação gráfica da adaptabilidade e estabilidade (Pi) da variável concentração de estaquiose de 18 genótipos de soja em ambiente geral, favorável e desfavorável, segundo a metodologia de Lin e Binns (1988) modificada por Carneiro (1998)

4.3. Análise segundo o Método Centróide (Rocha *et al.* 2005)

O Método Centróide (ROCHA *et al.* 2005) consiste na comparação de valores de distância cartesiana entre os genótipos e quatro referências ideais (centróides), criados com base nos dados experimentais, cujos valores médios para cada ambiente são dados por: C₁, C₂, C₃ e C₄. Na prática, tem sido difícil encontrar genótipos próximos aos centróides C₁, C₂, C₃ e C₄. Assim, a inclusão de mais centróides de maior sentido biológico, contribui para a melhoria em aspecto quantitativo e qualitativo da análise. A modificação do método consistiu na adição de três centróides, também criados com base nos dados experimentais, cujos valores médios para cada ambiente são dados por: (C5, C6 e C7).

Utilizando-se desse método, que visa facilitar a interpretação dos dados, os parâmetros de adaptabilidade e estabilidade de linhagens e cultivares de soja para a variável produtividade (Kg ha⁻¹), avaliadas em quatro ambientes diferentes estão representados na Tabela 9. A cultivar VENCEDORA e a linhagem MSOY 8001 foram classificadas como de adaptabilidade geral alta. A cultivar ELITE foi classificada como pouco adaptada. A linhagem CS 02 302 apresentaram média adaptabilidade específica a ambientes favoráveis. Os outros quatorze genótipos foram classificados como apresentando média adaptabilidade geral nos ambientes testados.

Como visto pelo método proposto por Lin e Binns (1988) modificado por Carneiro (1998), as cultivares VENCEDORA e MSOY 8001 apresentaram as melhores médias de produtividade e adaptabilidade ampla em todos os ambientes testados. A cultivar ELITE mereceu destaque negativo em ambas as metodologias utilizadas no presente trabalho, além de apresentar a pior média de produção, ela apresentou-se como pouco adaptada nos ambientes testados. Nesse sentido, os dois métodos estudados no presente trabalho mostraram-se muito coerentes.

Observa-se no gráfico de dispersão (Figura 10) assim como na Tabela 9, tendência de aumento na média de produtividade dos genótipos de soja à medida que esses se aproximam do centróide I (adaptabilidade geral). De acordo com ROCHA *et al.* (2005), quanto menor for a diferença entre um genótipo qualquer e o ideótipo I, menor será a diferença entre esse e o genótipo de máximo desempenho em todos os ambientes, fazendo com que a adaptabilidade geral esteja necessariamente associada ao melhor desempenho.

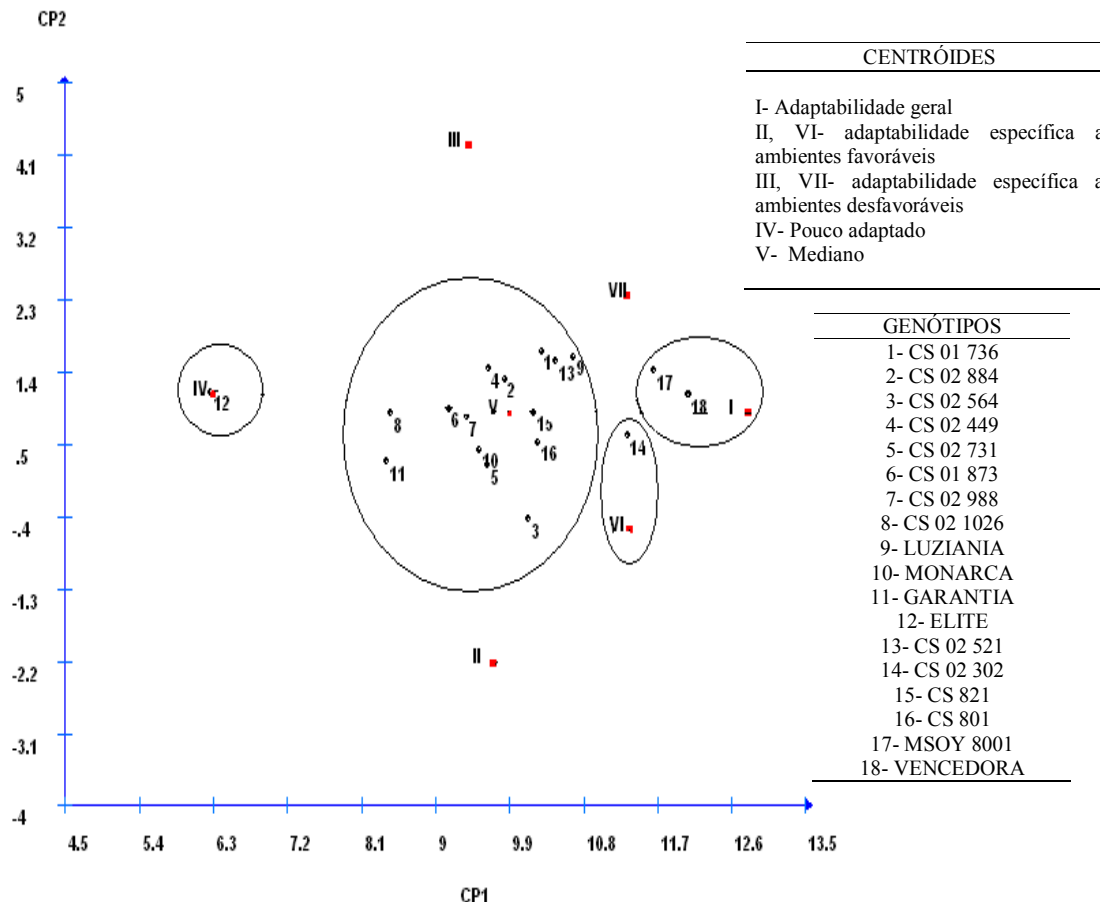


Figura 10 - Dispersão gráfica dos dois primeiros componentes principais de 18 genótipos de soja, em quatro ambientes, quanto à resposta da variável produção de grãos, segundo o Método Centróide (ROCHA *et al.* 2005)

Verifica-se então, que há coerência na indicação das cultivares e das linhagens determinadas como de adaptabilidade ampla, para ambientes favoráveis e para ambientes desfavoráveis, conjuntamente pelas duas metodologias utilizadas no presente trabalho. A utilização das metodologias de Lin e Binns (1988) modificada por Carneiro (1998) e o Método Centróide (ROCHA *et al.* 2005) tornam, para o melhorista, a análise mais precisa e confiável do que o uso de apenas uma metodologia isoladamente.

Tabela 9 - Parâmetros de adaptabilidade e estabilidade das linhagens e cultivares de soja, para variável produtividade (Kg ha^{-1}), avaliadas em quatro ambientes diferentes com base na metodologia de Centróide

Genótipos	Média (Kg ha^{-1})	Classificação	Probabilidade						
			I	II	III	IV	V	VI	VII
1- CS 01 736	3200,37	V	0,093	0,069	0,086	0,066	0,360	0,098	0,225
2- CS 02 884	3048,14	V	0,086	0,082	0,085	0,080	0,409	0,102	0,153
3- CS 02 564	3323,33	V	0,136	0,124	0,068	0,066	0,241	0,220	0,141
4- CS 02 449	2977,22	V	0,082	0,078	0,092	0,086	0,413	0,095	0,150
5- CS 02 731	3100,92	V	0,103	0,106	0,076	0,076	0,354	0,144	0,138
6- CS 01 873	2815,18	V	0,092	0,117	0,097	0,128	0,311	0,120	0,132
7- CS 02 988	2904,44	V	0,098	0,115	0,096	0,112	0,309	0,124	0,142
8- CS 02 1026	2616,85	V	0,091	0,115	0,115	0,181	0,249	0,114	0,130
9- LUZIANIA	3316,11	V	0,108	0,076	0,082	0,065	0,315	0,113	0,239
10- MONARCA	3036,29	V	0,068	0,072	0,055	0,058	0,553	0,091	0,100
11- GARANTIA	2664,63	V	0,093	0,118	0,105	0,146	0,283	0,118	0,133
12- ELITE	1881,30	IV	0	0	0	1	0	0	0
13- CS 02 521	3233,15	V	0,090	0,072	0,073	0,062	0,425	0,102	0,172
14- CS 02 302	3639,82	VI	0,218	0,105	0,073	0,063	0,159	0,221	0,158
15- CS 821	3235,74	V	0,099	0,076	0,072	0,062	0,393	0,113	0,182
16- CS 801	3329,07	V	0,138	0,086	0,083	0,066	0,254	0,143	0,227
17- MSOY 8001	3657,60	I	0,215	0,089	0,0737	0,058	0,175	0,182	0,205
18- VENCEDORA	3849,81	I	0,289	0,082	0,070	0,0543	0,140	0,161	0,202

Média geral: 3101,67 Kg ha^{-1}

Classe I: Adaptabilidade geral alta; Classe II: Máxima adaptabilidade específica a ambientes favoráveis; Classe III: Máxima adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis; Classe IV: Pouco adaptado; Classe V: Média adaptabilidade geral; Classe VI: Média adaptabilidade específica a ambientes favoráveis; Classe VII: média adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis.

Os parâmetros de adaptabilidade e estabilidade dos cultivares e linhagens obtidas pelo método de Centróide, considerando a variável concentração de proteína estão apresentados na Tabela 10. Segundo BARROS *et al.* (2008) o método Centróide é uma metodologia baseada na análise de componentes principais, utilizada para representar a variação da performance dos genótipos nos ambientes em uma dispersão no plano com poucos eixos, o que permite uma análise simultânea do desempenho de um número elevado de genótipos em virtude da facilidade de interpretação dos resultados.

Nesse sentido, ELITE foi a cultivar com maior probabilidade de pertencer ao grupo das que apresentam melhores padrões de reposta em ambiente geral (Ideótipo I) e com as maiores médias para variável concentração de proteína, o que também foi notado pela Metodologia de Lin e Binns (1988) Modificada por Carneiro (1998), mostrando forte coerência entre os métodos. Já as linhagens CS 02 302 e CS 02 884 apresentaram-se adaptadas a ambientes de baixa tecnologia, em ambos os métodos utilizados no presente trabalho (Tabela 5 e 10).

Entretanto, as cultivares VENCEDORA, MSOY 8001 e a linhagem CS 02 449 que pelo método centróide apresentaram-se responsivas à melhoria do ambiente, não apresentaram o mesmo desempenho segundo a metodologia Lin e Binns (1988) Modificada por Carneiro (1998) (Tabela 5), mostrando fraca coerência. O conceito de adaptabilidade e estabilidade utilizado no método centróide se diferencia dos demais, uma vez que o genótipo de máxima adaptação específica não é aquele que apresenta bom desempenho nos grupos de ambientes favoráveis ou desfavoráveis, mas sim o genótipo que apresenta valores máximos para determinado grupo de ambientes (favoráveis e desfavoráveis) e mínimo para o outro conjunto (ROCHA *et al.* 2005).

Ambas as metodologias indicaram a linhagem CS 02 521 como pouca adaptada nos ambientes testados. Nove genótipos apresentaram desempenho fraco segundo a metodologia de centróide, sendo agrupados como média adaptabilidade geral (grupo V).

A análise visual do gráfico dos componentes principais permite avaliar que as cultivares apresentaram distribuição heterogênea e que existem pontos de maior proximidade aos centróides I, II, IV, VI e VII com maior concentração de genótipos no centróide V, possibilitando a indicação de genótipos conforme sua adaptabilidade a um conjunto de ambientes (Figura 11), constatando-se a classificação apresentada na Tabela 10.

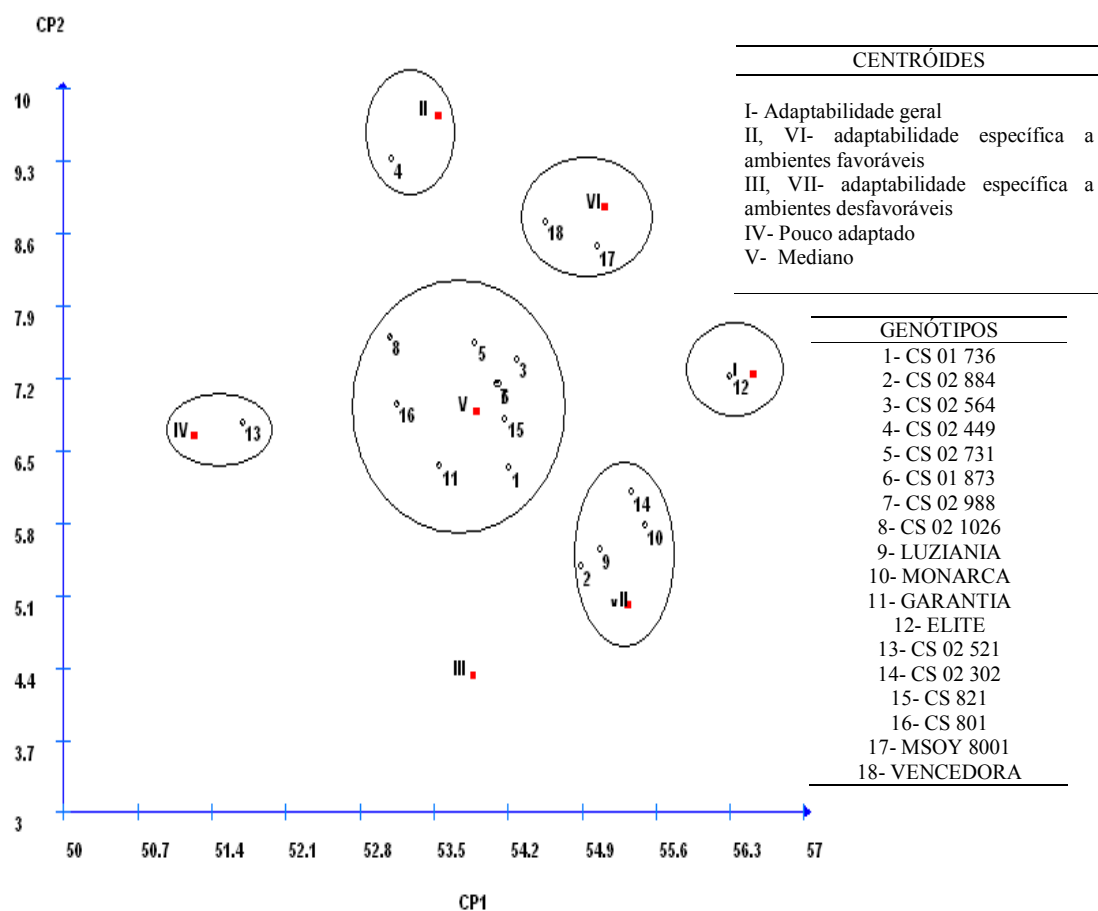


Figura 11 - Dispersão gráfica dos dois primeiros componentes principais de 18 genótipos de soja, em quatro ambientes, quanto à resposta da variável concentração de proteína, segundo o Método Centróide (ROCHA *et al.* 2005)

Tabela 10 - Parâmetros de adaptabilidade e estabilidade das linhagens e cultivares de soja, para variável concentração de proteína (%), avaliadas em quatro ambientes diferentes com base na metodologia de Centróide

Genótipos	Média (%)	Classificação	Probabilidade						
			I	II	III	IV	V	VI	VII
1- CS 01 736	42,74	V	0,119	0,092	0,096	0,080	0,284	0,134	0,191
2- CS 02 884	43,22	VII	0,141	0,084	0,093	0,069	0,229	0,138	0,243
3- CS 02 564	42,86	V	0,109	0,110	0,067	0,067	0,329	0,191	0,124
4- CS 02 449	41,63	II	0,094	0,239	0,080	0,126	0,199	0,158	0,101
5- CS 02 731	42,67	V	0,114	0,147	0,073	0,080	0,254	0,208	0,121
6- CS 01 873	42,68	V	0,077	0,077	0,056	0,055	0,514	0,118	0,100
7- CS 02 988	42,68	V	0,089	0,090	0,063	0,063	0,442	0,137	0,113
8- CS 02 1026	41,63	V	0,0967	0,187	0,086	0,135	0,231	0,152	0,109
9- LUZIANIA	43,43	VII	0,171	0,086	0,083	0,063	0,202	0,157	0,235
10- MONARCA	43,78	VII	0,198	0,071	0,080	0,055	0,147	0,127	0,318
11- GARANTIA	43,15	V	0,158	0,115	0,093	0,081	0,200	0,175	0,175
12- ELITE	44,48	I	0,597	0,050	0,043	0,032	0,072	0,101	0,102
13- CS 02 521	40,69	IV	0,073	0,095	0,110	0,370	0,160	0,091	0,098
14- CS 02 302	43,61	VII	0,175	0,086	0,096	0,069	0,179	0,145	0,247
15- CS 821	42,46	V	0,113	0,105	0,129	0,117	0,237	0,131	0,164
16- CS 801	41,63	V	0,100	0,120	0,128	0,185	0,209	0,1245	0,131
17- MSOY 8001	40,20	VI	0,033	0,042	0,052	0,723	0,064	0,039	0,043
18- VENCEDORA	40,62	VI	0,071	0,085	0,121	0,396	0,142	0,084	0,097

Média geral: 42,45 %

Classe I: Adaptabilidade geral alta; Classe II: Máxima adaptabilidade específica a ambientes favoráveis; Classe III: Máxima adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis; Classe IV: Pouco adaptado; Classe V: Média adaptabilidade geral; Classe VI: Média adaptabilidade específica a ambientes favoráveis; Classe VII: média adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis.

Na Tabela 11, estão representados os parâmetros de adaptabilidade e estabilidade das linhagens e cultivares de soja, para variável concentração de sacarose (%), avaliadas em quatro ambientes diferentes com base na metodologia de Centróide. Das cultivares e linhagens estudadas no presente trabalho, foi classificada como de adaptabilidade alta, a linhagem CS 01 736; de média adaptabilidade específica a ambientes favoráveis, a linhagem CS 02 731 e a cultivar MSOY 8001; de média adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis, a linhagem CS 801; e de média adaptabilidade geral, os outros quatorze genótipos.

A análise visual do gráfico de componentes principais (Figura 12) permite avaliar que os genótipos não apresentam distribuição heterogênea para a concentração de sacarose e que a maioria dos pontos (genótipos) foram plotados na região central do gráfico, dificultando assim a classificação. Existem pontos de maior proximidade apenas nos centróides I, VI e VII e as maiores concentrações de pontos estão localizados na região do centróide V. Sendo assim, a dificuldade de classificação por análise visual gráfica dos genótipos localizados na região central foi contornada pela Tabela 11, que apresenta os valores de probabilidades de cada genótipo pertencer a cada um dos grupos, caracterizados pelos centróides.

A metodologia de Lin e Binns (1988) modificada por Carneiro (1998) e o Método Centróide (ROCHA *et al.* 2005), utilizadas no presente trabalho, apresentaram coerência na indicação das cultivares. Sendo que o emprego das duas metodologias é mais confiável do que apenas por uma metodologia isoladamente.

As duas metodologias apontaram à superioridade da linhagem CS 01 736 frente aos outros genótipos, como mostrado nas Tabelas 6 e 11. Essa linhagem mereceu destaque positivo, pois, apresentou alto concentração de sacarose, adaptabilidade ampla em todos os ambientes testados e razoável produtividade média nos quatro ambientes, (Tabela 4). A linhagem CS 02 731 apresentou média adaptabilidade específica a ambientes favoráveis e a linhagem CS 801 apresentou média adaptabilidade específica apenas em ambientes desfavoráveis em ambas as metodologias utilizadas, mostrando mais uma vez coerência entre as duas metodologias (Tabelas 6 e 11). Nesse sentido Cruz e Carneiro (2003), comentam que a identificação de cultivares que apresentam ampla adaptabilidade e boa estabilidade é uma das informações mais utilizadas para atenuar os efeitos da interação genótipo x ambiente.

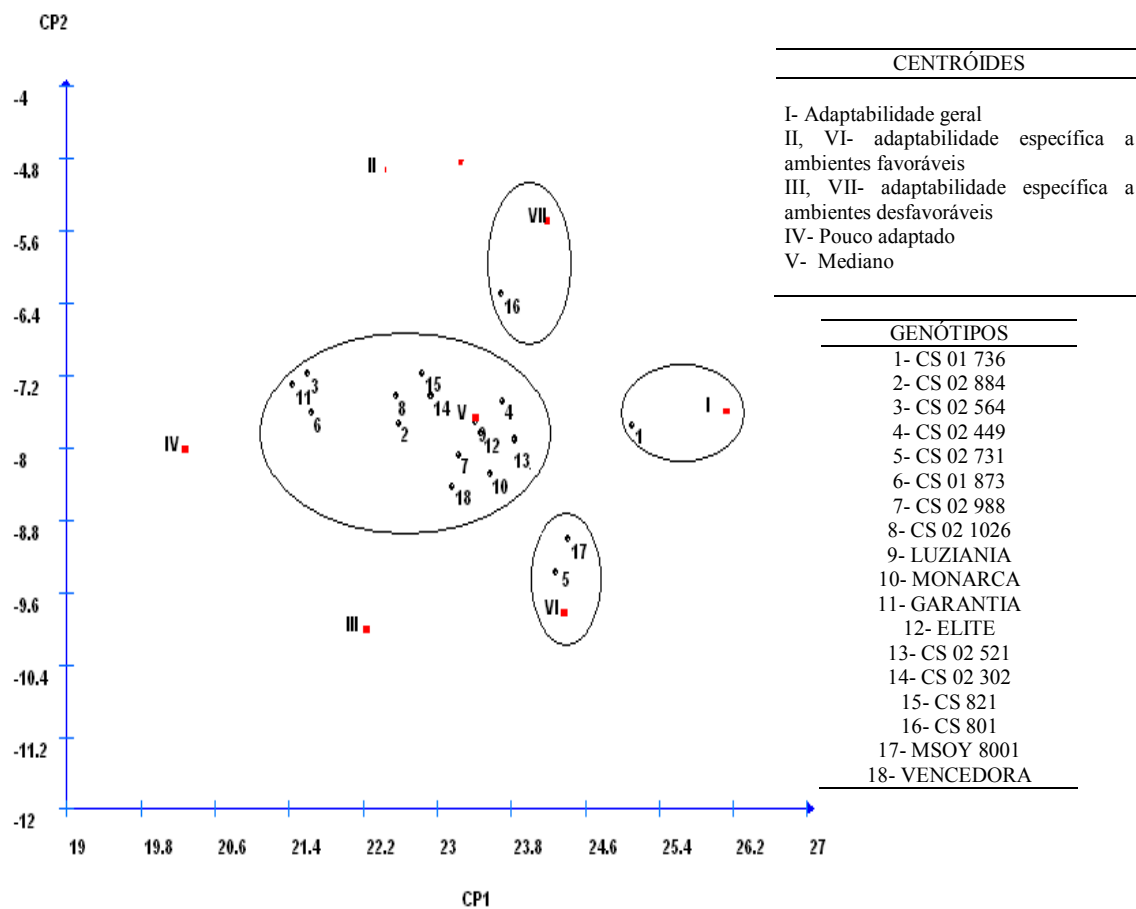


Figura 12 - Dispersão gráfica dos dois primeiros componentes principais de 18 genótipos de soja, em quatro ambientes, quanto à resposta da variável concentração de sacarose, segundo o Método Centróide (ROCHA *et al.* 2005)

Tabela 11 - Parâmetros de adaptabilidade e estabilidade das linhagens e cultivares de soja, para variável concentração de sacarose (%), avaliadas em quatro ambientes diferentes com base na metodologia de Centróide

Genótipos	Média (%)	Classificação	Probabilidade						
			I	II	III	IV	V	VI	VII
1- CS 01 736	4,61	I	0,2209	0,0698	0,1231	0,0632	0,1582	0,1903	0,1745
2- CS 02 884	3,94	V	0,0836	0,1125	0,0875	0,1225	0,3193	0,1847	0,0900
3- CS 02 564	3,78	V	0,0902	0,1173	0,1062	0,1615	0,2679	0,1543	0,1027
4- CS 02 449	4,32	V	0,1165	0,0844	0,103	0,0788	0,2573	0,2419	0,1181
5- CS 02 731	4,31	VI	0,1201	0,1021	0,1022	0,0904	0,2154	0,2547	0,1151
6- CS 01 873	3,75	V	0,0849	0,1339	0,0946	0,1861	0,2493	0,1578	0,0934
7- CS 02 988	4,09	V	0,0774	0,0988	0,0797	0,1037	0,3768	0,1802	0,0835
8- CS 02 1026	3,95	V	0,0862	0,0987	0,0972	0,1162	0,3418	0,1625	0,0975
9- LUZIANIA	4,12	V	0,0636	0,0629	0,0629	0,0623	0,5141	0,1661	0,0682
10- MONARCA	4,20	V	0,0855	0,0831	0,08	0,078	0,3566	0,2275	,0893
11- GARANTIA	3,73	V	0,0922	0,1307	0,1044	0,175	0,2364	0,1594	0,102
12- ELITE	4,09	V	0,0837	0,0887	0,0858	0,0911	0,3734	0,1864	0,0909
13- CS 02 521	4,40	V	0,1465	0,0725	0,1161	0,0677	0,2326	0,2115	0,1531
14- CS 02 302	4,05	V	0,1012	0,0927	0,1194	0,106	0,3026	0,1566	0,1215
15- CS 821	4,07	V	0,1045	0,0873	0,1293	0,1003	0,2973	0,1516	0,1297
16- CS 801	4,36	VII	0,1577	0,0796	0,1862	0,0826	0,1549	0,1303	0,2086
17- MSOY 8001	4,49	VI	0,1717	0,0764	0,1053	0,0663	0,1823	0,2547	0,1434
18- VENCEDORA	4,00	V	0,1246	0,1394	0,1319	0,1499	0,1692	0,1499	0,135

Média geral: 4,12 %

Classe I: Adaptabilidade geral alta; Classe II: Máxima adaptabilidade específica a ambientes favoráveis; Classe III: Máxima adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis; Classe IV: Pouco adaptado; Classe V: Média adaptabilidade geral; Classe VI: Média adaptabilidade específica a ambientes favoráveis; Classe VII: média adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis.

A classificação dos genótipos avaliados nos ambientes para a variável concentração de rafinose, em um dos sete grupos caracterizados pelos centróides e a probabilidade associada à sua classificação são mostradas na Tabela 12. O método de centróide, que visa facilitar a interpretação dos dados, classificou apenas a linhagem CS 02 988 como de alta adaptabilidade em todos os ambientes testados; a cultivar VENCEDORA, de pouca adaptada; as linhagens CS 02 449 e CS 02 731, de média adaptabilidade específica a ambientes favoráveis; e de média adaptabilidade geral, os outros quatorze genótipos.

A análise visual do gráfico de componentes principais permitiu avaliar que os genótipos apresentam distribuição pouco heterogênea para característica concentração de rafinose (Figura 13) e que existem pontos de maior proximidade apenas aos centróides I, IV, VI, e o V com maior número de genótipos centralizados sem aproximação a qualquer outro centróide.

Como visto pelo método de Lin e Binns (1988) modificada por Carneiro (1998), o método de centróide indicou a linhagem CS 02 988 como de adaptabilidade alta em todos os ambientes testados, observando mais uma vez coerência entre os métodos utilizados. Porém, apesar da linhagem CS 02 988 apresentar ampla adaptabilidade em ambos os métodos, esta apresentou uma baixa produtividade em relação aos demais genótipos (Tabela 4) e um alta concentração de rafinose (Tabela 12).

A mesma coerência em ambos os métodos se mantiveram para classificar a cultivar VENCEDORA em pouca adaptada e a linhagem CS 02 731 com média adaptabilidade específica a ambientes favoráveis (Tabelas 7 e 12). Apesar da cultivar VENCEDORA ser classificada como pouca adaptada, ela se destacou por apresentar uma alta produtividade (Tabela 4) e baixa concentração de rafinose entre todos os genótipos avaliados no presente trabalho (Tabela 12).

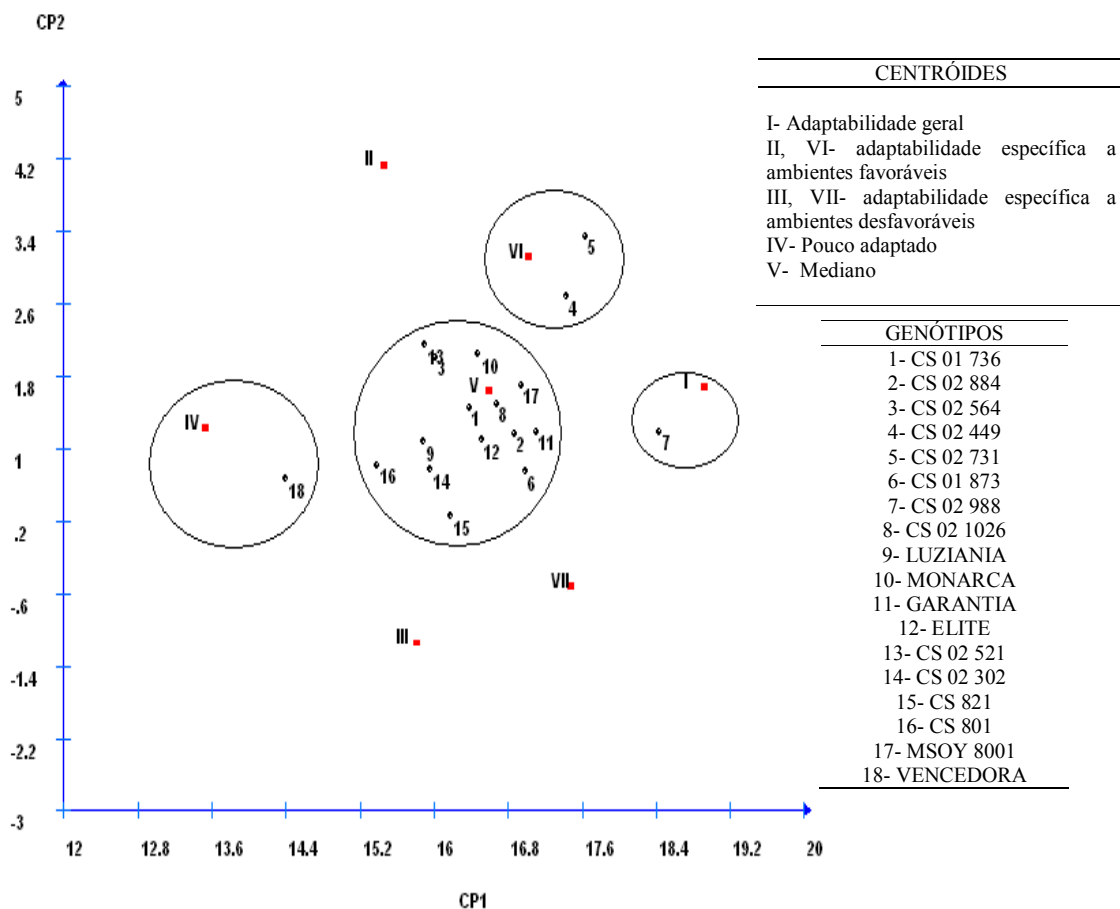


Figura 13 - Dispersão gráfica dos dois primeiros componentes principais de 18 genótipos de soja, em quatro ambientes, quanto à resposta da variável concentração de rafinose, segundo o Método Centróide (ROCHA *et al.* 2005)

Tabela 12 - Parâmetros de adaptabilidade e estabilidade das linhagens e cultivares de soja, para variável concentração de rafinose (%), avaliadas em quatro ambientes diferentes com base na metodologia de Centróide

Genótipos	Média (%)	Classificação	Probabilidade						
			I	II	III	IV	V	VI	VII
1- CS 01 736	1,03	V	0,0974	0,1166	0,1112	0,1426	0,2725	0,1321	0,1275
2- CS 02 884	1,08	V	0,1025	0,0896	0,0902	0,081	0,3541	0,1556	0,1271
3- CS 02 564	1,05	V	0,0968	0,093	0,0912	0,088	0,3625	0,1477	0,1209
4- CS 02 449	1,13	VI	0,1458	0,1079	0,0955	0,0821	0,2086	0,2168	0,1433
5- CS 02 731	1,19	VI	0,2346	0,0949	0,0797	0,0632	0,1274	0,2777	0,1224
6- CS 01 873	1,04	V	0,0858	0,0724	0,1969	0,1113	0,2712	0,0935	0,169
7- CS 02 988	1,22	I	0,3399	0,0667	0,0911	0,0545	0,1201	0,1437	0,184
8- CS 02 1026	1,06	V	0,063	0,0529	0,0806	0,062	0,5587	0,0782	0,1046
9- LUZIANIA	1,01	V	0,0906	0,108	0,1103	0,1472	0,2986	0,1223	0,1229
10- MONARCA	1,05	V	0,0654	0,0626	0,0674	0,0644	0,5564	0,0945	0,0893
11- GARANTIA	1,12	V	0,1566	0,0937	0,1178	0,083	0,2001	0,1737	0,1751
12- ELITE	1,02	V	0,087	0,0763	0,1808	0,1194	0,2798	0,0975	0,1592
13- CS 02 521	1,06	V	0,1148	0,1172	0,0889	0,09	0,2577	0,2106	0,1209
14- CS 02 302	0,99	V	0,0865	0,0848	0,1749	0,1617	0,2489	0,0992	0,1441
15- CS 821	0,98	V	0,0875	0,09	0,1648	0,183	0,2334	0,1009	0,1404
16- CS 801	0,94	V	0,0874	0,0959	0,1499	0,2112	0,2212	0,1041	0,1302
17- MSOY 8001	1,08	V	0,076	0,0617	0,0775	0,0624	0,5089	0,1012	0,1124
18- VENCEDORA	0,89	IV	0,0642	0,0909	0,089	0,46	0,1325	0,0804	0,0831

Média geral: 1,05 %

Classe I: Adaptabilidade geral alta; Classe II: Máxima adaptabilidade específica a ambientes favoráveis; Classe III: Máxima adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis; Classe IV: Pouco adaptado; Classe V: Média adaptabilidade geral; Classe VI: Média adaptabilidade específica a ambientes favoráveis; Classe VII: média adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis.

Na Tabela 13, são apresentadas as classificações dos genótipos a um dos sete grupos caracterizados pelos centróides e a probabilidade associada à sua classificação, junto com a concentração de estaquiose (%). Por essa metodologia agruparam-se as linhagens CS 02 884 e CS 02 564 e as cultivares GARANTIA e MSOY 8001 de média adaptabilidade específica a ambientes favoráveis; a linhagem CS 02 302, de máxima adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis; a cultivar VENCEDORA, de pouco adaptada; a linhagem CS 801 de média adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis e os outros onze genótipos foram agrupados como sendo de média adaptabilidade geral.

Segundo CARVALHO *et al.* (2002), a análise visual do gráfico de componentes principais permite avaliar os genótipos que apresentam distribuição heterogênea e que existem pontos de maior proximidade em todos os centróides, possibilitando recomendação de genótipos de adaptabilidade geral ou de adaptabilidade específica a um subgrupo de ambientes.

Na Figura 14 estão representados os componentes principais que permitem prever que os genótipos apresentaram distribuição heterogênea para característica concentração de estaquiose, e que existem pontos (genótipos) de maior proximidade aos centróides III, IV, VI, VII e o V com maior número de genótipos centralizados.

A metodologia de Lin e Binns (1988) modificada por Carneiro (1998) e o método Centróide (ROCHA *et al.* 2005) apresentaram pequena variação na indicação das cultivares para variável concentração de estaquiose. Em ambas as metodologias estudadas, as cultivares GARANTIA, MSOY 8001 e a linhagem CS 02 564 e apresentaram-se responsivas à melhoria do ambiente. A cultivar VENCEDORA foi classificada no grupo de pouca adaptada nos ambientes estudados (Tabelas 8 e 13).

Como visto no método Lin e Binns (1988) modificada por Carneiro (1998), as linhagens CS 02 302 e CS 801 apresentaram-se adaptadas a ambientes de baixa tecnologia (Tabela 8) assim como pelo método de centróide, demonstrando mais uma vez uma forte coerência entre os métodos estudados. Porém o genótipo que merece grande destaque é a linhagem CS 02 302, que apresentou alta produtividade nos ambientes (Tabela 4); máxima adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis em ambos os métodos estudados (Tabelas 8 e 13); e o principal, baixa concentração de estaquiose.

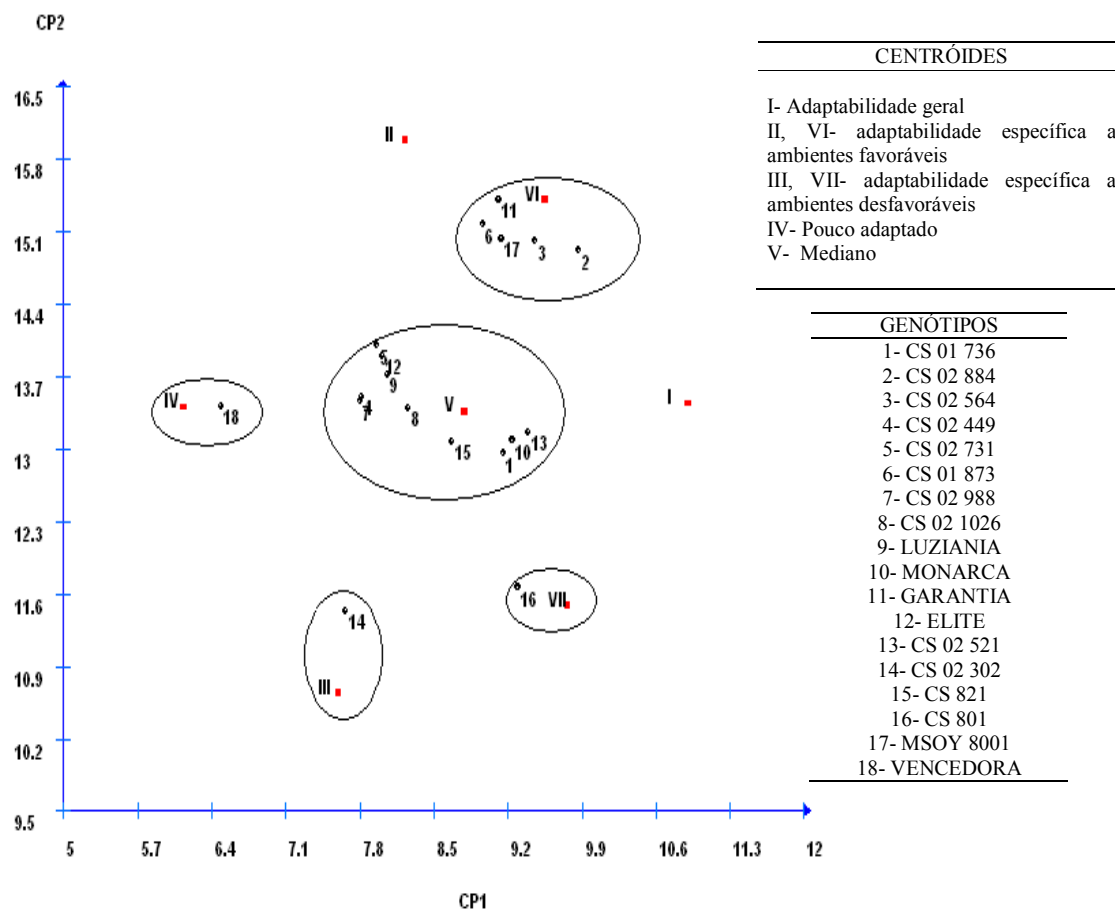


Figura 14 - Dispersão gráfica dos dois primeiros componentes principais de 18 genótipos de soja, em quatro ambientes, quanto à resposta da variável concentração de estaquiose, segundo o Método Centróide (ROCHA *et al.* 2005)

Tabela 13 - Parâmetros de adaptabilidade e estabilidade das linhagens e cultivares de soja, para variável concentração de estaquiose (%), avaliadas em quatro ambientes diferentes com base na metodologia de Centróide

Genótipos	Média (%)	Classificação	Probabilidade						
			I	II	III	IV	V	VI	VII
1- CS 01 736	2,72	V	0,1026	0,0656	0,1003	0,065	0,3791	0,1628	0,1247
2- CS 02 884	2,76	VI	0,1148	0,0794	0,085	0,0673	0,2593	0,2811	0,1131
3- CS 02 564	2,65	VI	0,1065	0,0941	0,0842	0,0777	0,2555	0,2768	0,1051
4- CS 02 449	2,58	V	0,0808	0,0743	0,0765	0,0709	0,4374	0,1703	0,0899
5- CS 02 731	2,62	V	0,0931	0,0894	0,0802	0,0778	0,3294	0,2329	0,0971
6- CS 01 873	2,70	VI	0,1067	0,0961	0,0756	0,0716	0,2036	0,3483	0,0982
7- CS 02 988	2,58	V	0,0839	0,0825	0,0747	0,0737	0,3994	0,1953	0,0905
8- CS 02 1026	2,55	V	0,0929	0,0855	0,1027	0,0929	0,358	0,159	0,109
9- LUZIANIA	2,64	V	0,0955	0,0697	0,0935	0,0689	0,3918	0,1698	0,1109
10- MONARCA	2,70	V	0,1131	0,082	0,1165	0,0833	0,2976	0,2976	0,1328
11- GARANTIA	2,66	VI	0,1197	0,119	0,0917	0,0914	0,2044	0,2613	0,1124
12- ELITE	2,59	V	0,1068	0,0915	0,1116	0,0944	0,2945	0,1802	0,1209
13- CS 02 521	2,84	V	0,1723	0,0666	0,0956	0,0576	0,218	0,2172	0,1727
14- CS 02 302	2,57	III	0,1134	0,0849	0,2301	0,1119	0,1785	0,1183	0,1629
15- CS 821	2,61	V	0,1143	0,0779	0,1771	0,0912	0,2428	0,1336	0,1632
16- CS 801	2,78	VII	0,1444	0,0701	0,2007	0,0744	0,1529	0,1166	0,2409
17- MSOY 8001	2,87	VI	0,1821	0,0655	0,0824	0,0534	0,1855	0,2852	0,146
18- VENCEDORA	2,42	IV	0,1195	0,1333	0,1495	0,1797	0,1517	0,1274	0,1389

Média geral: 2,66 %

Classe I: Adaptabilidade geral alta; Classe II: Máxima adaptabilidade específica a ambientes favoráveis; Classe III: Máxima adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis; Classe IV: Pouco adaptado; Classe V: Média adaptabilidade geral; Classe VI: Média adaptabilidade específica a ambientes favoráveis; Classe VII: média adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis.

4.4. Correlação entre Produtividade e Componentes Bioquímicos da soja

O conhecimento da associação entre caracteres é de grande importância nos trabalhos de melhoramento, principalmente se a seleção de um caráter apresentar dificuldades, por exemplo, por ser de difícil medição (CRUZ & REGAZZI, 1997). A correlação entre caracteres nos fornece uma idéia de como a seleção para um caráter influencia a expressão de outros caracteres. A correlação nada mais é do que a medida da intensidade de associação entre duas variáveis (STEEL & TORRIE, 1980).

Como destaca RIBEIRO *et al.* (2001), o coeficiente de correlação linear de Pearson mede a intensidade com a qual se manifesta uma associação entre duas variáveis. O coeficiente de correlação é um número puro, sem unidade ou dimensão, que varia entre -1 e 1. Este coeficiente é usado para expressar o quanto os pontos se aproximam de uma reta imaginária. Um coeficiente próximo da unidade, positivo ou negativo, significa uma grande concentração dos pontos em torno da reta, enquanto que um coeficiente menor significa maior dispersão dos pontos em relação a esta reta. Valores positivos indicam a tendência de uma variável aumentar quando a outra aumenta. Quando o coeficiente é negativo, valores altos de uma variável estão associados a valores baixos da outra.

As estimativas dos coeficientes de correlação entre os pares de caracteres (produtividade, proteína, sacarose, rafinose e estaquiose) avaliados neste trabalho, encontram-se na Tabela 14.

Tabela 14 - Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre as características analisadas nos genótipos. Produtividade, Proteína, Sacarose, Rafinose e Estaquiose

	Proteína	Sacarose	Rafinose	Estaquiose
Produtividade	-0,60**	-0,13	-0,43**	-0,37**
Proteína	-	-0,13	0,14*	0,07
Sacarose	-	-	0,79**	0,90**
Rafinose	-	-	-	0,88**

**, *: Significativo a 1 e 5% de probabilidade, pelo teste t.

Os caracteres produtividade e proteína foram negativamente correlacionados com valores de -0,60 (Tabela 12). As informações disponíveis indicam que a correlação entre a concentração de proteína e produtividade foi de -0,45 no trabalho de WILCOX e SHIBLES (2001). SHORTER *et al.* (1976) estudaram o comportamento de três populações obtidas por três pares de cruzamentos bi-parentais envolvendo progenitores com baixo, médio e alta

concentração de proteína, avaliados em duas localidades nas gerações F₃ e F₄. Nesse trabalho, foram obtidas correlações genotípicas entre concentração de proteína e produção de grãos variando entre -0,50 a -0,34.

Estes resultados mostram a dificuldade de associar a seleção de genótipos com alta produtividade e alta concentração de proteína, indicando que a seleção para um caráter pode resultar no declínio do outro, como pode ser observado nas Tabelas 4 e 5, onde o genótipo que apresentou alta concentração de proteína não apresentou alta produtividade. Sabe-se que os programas de melhoramento, principalmente nos Estados Unidos, priorizavam o desenvolvimento de variedades produtivas e com teor de óleo elevado. Pelo fato desses dois caracteres serem negativamente correlacionados com a concentração de proteína, o conteúdo protéico dos grãos de soja tem se mantido em níveis mais baixos (em torno de 40 %) do que potencialmente poderiam ser conseguidos (em torno de 50 %) (KRISHNAN *et al.* (2000).

Entre os caracteres produtividade e concentração de sacarose foi encontrada correlação não significativa de -0,13. Entretanto, a correlação entre produtividade e rafinose, encontrou-se correlação negativa e significativa de -0,43, assim como entre os caracteres produtividade e estaquiose, com correlação de -0,37. Os resultados aqui obtidos discordam em parte com o trabalho de WILCOX e SHIBLES (2001), que estudaram a associação entre produtividade vs concentração de sacarose; e produtividade vs concentração de rafinose e estaquiose. Nesse trabalho WILCOX e SHIBLES (2001) encontraram correlação não significativa, entre a produtividade e concentração de sacarose, concordando com o resultado do presente trabalho. Estes dados indicam que a concentração de sacarose pode ser alterada sem afetar a produtividade.

Entretanto WILCOX e SHIBLES (2001) encontraram também correlação não significativa para produtividade vs concentração de rafinose e estaquiose, discordando com os resultados apresentados na Tabela 14 do presente trabalho, onde foram encontradas correlações significativas de -0,43 entre produtividade e rafinose e de -0,37 entre produtividade e estaquiose. Essa correlação negativa e significativa entre caracteres produtividade vs rafinose e produtividade vs estaquiose, se mostra desejável, pois ao buscar genótipos mais produtivos estamos ao mesmo tempo diminuindo a concentração de rafinose e estaquiose. Nesse sentido, a cultivar VENCEDORA e a linhagem CS 02 302 poderiam ser selecionadas, tanto para genitores em um programa de hibridação assim como para recomendação para plantio visando à produção de um farelo mais adequado a alimentação de animais monogástricos.

O resultado da análise de correlação entre a concentração de proteína e concentração de sacarose não foi significativa (Tabela 14). TEIXEIRA (2008), De PAULA (2007), WILCOX e SHIBLES (2001) e HARTWIG *et al.* (1997) encontram em seus trabalhos correlações negativas entre proteína e sacarose, diferentemente do resultado do presente trabalho. Essa correlação não significativa entre sacarose e proteína facilita a seleção para cultivares com altas concentrações de proteína e de sacarose.

Dentre os genótipos estudados houve uma fraca correlação significativa e positiva de 0,14, entre as concentrações de proteína e rafinose. Diferentemente, TEIXEIRA (2008) e De PAULA (2007) encontraram correlação não significativa entre rafinose e proteína, enquanto que WILCOX e SHIBLES (2001) encontraram correlação significativa e negativa entre proteína *vs* rafinose + estaquiose. WANG *et al* (2006) encontraram correlação não significativa entre rafinose e proteína, analisando cultivares de lentilhas. Essa correlação fracamente positiva entre proteína e rafinose, permitiu a seleção da cultivar LUZIANIA e a linhagem CS 02 302 que apresentaram alta concentração de proteína e baixa concentração de rafinose (Tabela 5 e 7).

Pode-se observar na Tabela 14 que não houve correlação significativa entre as concentrações de proteína e de estaquiose. Da mesma forma, TEIXEIRA (2008), De PAULA (2007) e WANG *et al.* (2006) encontraram correlação não significativa entre proteína e estaquiose. HYMOWITZ *et al.* (1972) encontrou correlação significativa e positiva entre a concentração de estaquiose *vs* proteína. Esses resultados indicam que o conteúdo de proteína nos genótipos avaliados no presente trabalho, pode ser aumentado sem afetar o conteúdo de estaquiose. Nesse sentido, a cultivar ELITE e a linhagem CS 02 302 apresentaram ótimo desempenho para esses caracteres avaliados, e poderiam ser os mais indicados para uso na alimentação humana e de animais monogástrico, se fossem considerados apenas esses dois fatores.

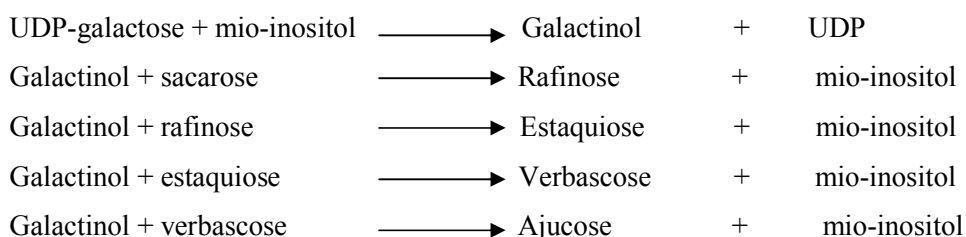
Foi encontrada correlação significativa de 0,79, entre as concentrações de sacarose e rafinose (Tabela 14). Estes resultados estão de acordo TEIXEIRA (2008), HARTWIG *et al*, (1997) e HYMOWITZ *et al*, (1972) que encontraram correlação positiva entre os caracteres sacarose e rafinose em soja. Diferente de De PAULA (2007) que encontrou correlação negativa entre as concentrações de sacarose e rafinose em soja. Enquanto que WANG *et al*, (2006) não encontraram correlação significativa entre sacarose e rafinose em lentilhas.

Entre as concentrações de sacarose e estaquiose foi encontrada correlação significativa de 0,9. Ao contrario dos trabalhos de TEIXEIRA (2008), De PAULA (2007) e HARTWIG *et al.* (1997), os quais não encontraram correlação significativas entre os

caracteres sacarose e estaquiose em soja. Já HYMOWITZ *et al*, (1972) encontrou em seu trabalho correlação negativa entre as concentrações de sacarose e de estaquiose.

Foi encontrada correlação significativa entre as concentrações de rafinose e estaquiose de 0,88. Este resultado esta de acordo com o trabalho de TEIXEIRA (2008) que encontrou em seu trabalho correlação positiva entre as concentrações de rafinose e estaquiose. Entretanto, De PAULA (2007) encontrou correlação negativa entre as concentrações de rafinose e estaquiose.

Esses resultados sugerem que sacarose, rafinose e estaquiose acumulam-se conjuntamente na semente de soja, Isso acontece provavelmente por compartilharem a mesma rota metabólica, Esses resultados estão de acordo com a hipótese proposta por DEY (1985), que propôs uma rota de síntese da rafinose e da estaquiose, mostrada abaixo:



Analizando esta rota podemos concluir que, havendo disponibilidade de galactinol, quanto maior a concentração de sacarose maior será a de rafinose e quanto maior a concentração de rafinose maior será a de estaquiose. Essa rota esclarece os resultados mostrados na Tabela 14, na qual os conteúdos de sacarose, rafinose e estaquiose estão correlacionados positivamente.

Logo, pode-se concluir por esses resultados que a seleção de indivíduos com alto teor de sacarose e baixos teores de rafinose e estaquiose se torna difícil usando-se apenas métodos clássicos de melhoramento. Ou seja, para obtermos uma variedade de soja contendo alto conteúdo de sacarose e baixos conteúdos de rafinose e estaquiose teremos que recorrer a técnicas de biologia molecular. Poderíamos por exemplo tentar inibir a enzima rafinose sintase, inibindo a síntese de rafinose e conseqüentemente de estaquiose. Isso poderia ser conseguido silenciando o gene que codifica esta enzima.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitiram as seguintes conclusões:

- Os dezoito genótipos de soja analisados nos quatro ambientes apresentaram diferença significativa na produtividade e nas concentrações de proteína, sacarose e rafinose, menos para a concentração de estaquiose. Portanto, somente para as características, produtividade e concentrações de proteína, sacarose e rafinose apresentaram variações em função do genótipo. Ou seja, a existência de variabilidade genética para a quatro das cinco características avaliadas no presente trabalho:
- Os métodos de adaptabilidade e estabilidade empregados além de serem bem coerentes, permitiram identificar os genótipos mais estáveis e responsivos a melhoria do ambiente, como sendo também os que apresentaram maior produtividade, altas concentrações de proteína, sacarose, rafinose e estaquiose:
- Os genótipos que se destacaram pela ampla adaptabilidade segundo as metodologias de Lin e Binns (1988) modificado por Carneiro (1998) e o Método Centróide (Rocha *et al.* 2005), foram:
 - considerando a característica produtividade: as cultivares MSOY 8001 e VENCEDORA;
 - considerando a característica concentração de proteína: a cultivar ELITE;
 - considerando a característica concentração de sacarose: a linhagem CS 01 736;
 - considerando a característica concentração de rafinose: a linhagem CS 02 988;
 - considerando a característica concentração de estaquiose: a cultivar MSOY 8001;

- Produtividade e concentração de proteína apresentaram correlação negativa, o que mostra que a seleção para um caráter pode provocar o declínio do outro, constituindo um problema para a obtenção de cultivares com alta produtividade e alta concentração de proteína;
- A correlação entre a produtividade e concentração de sacarose não foi significativa. O mesmo comportamento foi observado entre as concentrações de proteína vs sacarose e concentrações de proteína vs estaquiose. O fato desses caracteres não estarem correlacionados facilita a seleção de genótipos com elevada concentração de sacarose e alta produtividade, ou ainda, genótipos com altas concentrações de sacarose e proteína;
- A correlação entre produtividade vs rafinose e produtividade vs estaquiose foram negativas e significativas. Essa correlação negativa e significativa facilita a seleção de genótipos com alta produtividade e com baixas concentrações de rafinose e estaquiose. Nesse sentido a cultivar VENCEDORA e a linhagem CS 02 302 se destacaram;
- A concentração de sacarose apresentou altos e positivos coeficientes de correlação com as concentrações de rafinose e estaquiose, indicando à impossibilidade de se fazer a seleção direta de indivíduos com alta concentração de sacarose e ao mesmo tempo baixas concentrações de rafinose e estaquiose.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZEVEDO, V.H. **Estratificação ambiental, adaptabilidade e estabilidade de produção de grãos de genótipos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) nos Estados de Minas Gerais, Mato Grosso e São Paulo.** Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 140p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento), 2004.
- BARROS, H.B., SEDIYAMA, T., TEIXEIRA, R.C., CRUZ, C.D. Análises paramétricas e não-paramétricas para determinação da adaptabilidade e estabilidade de genótipos de soja, **Scientia Agraria**, Curitiba, v,9, n,3, p,299-309, 2008.
- CARNEIRO, P. C. S. **Novas metodologias de análise da adaptabilidade e estabilidade de comportamento.** Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 168 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento), Viçosa, 1998.
- CARVALHO, H,W,L., SILVA, M,L., CARDOSO, M,J., SANTOS, M,X., TABOSA, J,N., CARVALHO, C,L & LIRA, M,A. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no Nordeste brasileiro no triênio de 1998 a 200. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 37:1581-1588, 2002.
- CHEN, P., BUSS, G.R. Breeding soybeans for the soyfood market: specific traits and satrategies for selection. In: **IV International Soybean Processing and Utilization Conference**. Foz do Iguassu, PR, Brazil. *Proceedings*. p.830-838, 2004.
- CRUZ, C.D., REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** Ed. UFV, Viçosa-MG, 390p, 1997.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos Biométricos aplicados ao Melhoramento Genético.** 3. ed. Viçosa: UFV, v. 1, 480 p. 2004.
- CRUZ, C. D. **Programa GENES** - Aplicativo computacional em genética e estatística. Versão Windows 2007.0.0. 2007.
- De PAULA, S. A. **Composição bioquímica e fatores antinutricionais de genótipos de soja**, Viçosa – MG, UFV, 2007, 199p (Dissertação de Mestrado),
- De REZENDE, S,T, **Teores de oligossacarídeos de rafinose em soja, purificação e caracterização de invertases e α -galactosidases de microrganismos**, Brasília, DF: Universidade de Brasília, 1998, 157p, Tese (D,S,) - Universidade de Brasília,
- DEY, P.M. IN; PM.; DIXON, R.A. Biochemistry of storage carbohydrates in Green plants. **Academic Press**, p.53-129, 1985.
- FRANCIS, G., MAKKAR, H. P. S., BECKER, K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. **Aquaculture**, v.199, p.197-227, 2001.
- GRIFFITS, G., WIEDERMANN, L. Marketing food-quality soybeans in Japan. **American Soybean Association**, P.O. Box 27300, St. Louis, Mo. 63141. 1990.

GUIMARÃES, V.M., DE REZENDE, S.T., MOREIRA, M.A., BARROS, E.G., FELIX, C.R. Characterization of α -galactosidases from germinating soybean seed and their use for hydrolysis of oligosaccharides. **Phytochemistry**, v.58, p.67-73, 2001.

HARTWIG, E.E., KUO, T.M., KENTY, M.M. Seed protein and its relationship to soluble sugars in soybean. **Crop Science**, v.37, p.770-773, 1997.

HYMOWITZ, T., COLLINS, F.I., PANCZNER, J., WALKER, W.M. Relationship between the content of oil, protein, and sugar in soybean seed. **Agronomy Journal**, v.64, p.613-616, 1972.

KRISHNAN, H. B., JIANG, G., KRISHNAN, A. H. & WIEBOLD, W. J. Seed storage protein composition of non-nodulating soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) and its influence on protein quality. **Plant Science**, v.157, 191-199, 2000.

LESKE, K. L., JEVNE, C. J., COON, C. N. Effect of oligosaccharide additions on nitrogen-corrected true metabolizable energy of soy protein concentrate. **Poultry Science**. v. 72, p.664-668, 1993.

LIN. C.S., BINNS. M.R. A superiority measure of cultivar performance for cultivar x location data. **Canadian Journal of Plant Science**. v.68. n.3. p.193-198. 1988.

MELO FILHO, O.L. **Caracterização de populações de soja de alto conteúdo de proteína quanto à produtividade e à qualidade fisiológica das sementes**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 68p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento), 2002.

NAOE, L.K. **Seleção para alto conteúdo protéico em sementes de soja em populações de retrocruzamentos**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 65p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento), 2004.

PIOVESAN, N.D. **Aplicação de cruzamentos dialélicos no melhoramento genético do conteúdo protéico em soja**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 84p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento), 2000.

RIBEIRO, M. **Estabelecimento de um método colorimétrico para determinação da atividade da galactinol sintase, purificação parcial e caracterização da enzima de sementes de soja**. Universidade de Brasília, Brasília-DF, 125p. (Tese D.S), 2001.

ROCHA, R. B., MURO-ABAD, J. I., ARÚJO, E. F., CRUZ, C. D. Avaliação do método centróide para estudo de adaptabilidade ao ambiente de clones de *Eucalyptus grandis*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 15, n. 3, p. 255-266, jul./set. 2005.

SHORTER, R., BYTH, D.E., MUNGOMERY, V.E. Estimates of selection parameters associated with protein and oil content of soybean seeds (*Glycine max* (L.) Merrill). **Australian Journal of Agricultural Research**, v.28, p.211-222, 1976.

STEEL, R. G. D., TORRIE, J.H. **Principles and Procedures Statistics**. 2.ed. New York: McGraw-Hill Book Company, 633p., 1980.

TEIXEIRA, A.I. **Desenvolvimento de metodologia para quantificação de sacarose e correlações entre conteúdo de proteína, sacarose, rafinose e estaquiose em soja**.

Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, p.95, Tese (Doutorado em Bioquímica Agrícola), 2008.

TRUGO, L.C., FARAH, A., CABRAL, L. Oligosaccharide distribution in Brazilian soya bean cultivars. **Food Chemistry**, v.52, p.385-387, 1995.

WANG, N., DAUM, J. N. Effects of variety and crude protein content on nutrients and anti-nutrients in lentils (*Lens Culinaris*). **Food Chemistry**. v.95, p.493-502, 2006.

WILCOX, J.R., CAVINS, J.F. Backcrossing higher seed protein to a soybean cultivar. **Crop Science**, v.35, n.4, p.1036-1041, 1995.

WILCOX, J.R., SHIBLES, R.M. Interrelationships among seeds quality attributes in soybean. **Crop Science**, v.41, p.11-14, 2001.

WOBUS, U., BÄUMLEIN, H., CONRAD, U., MÜNTZ, K. & WEBER, H. Seeds of change. **Meeting Report**, (5) 512-513, 2000.

YAN, W., KANG, M. A graphical tool for breeder, geneticists, and agronomists. **GGE biplot analysis**: New York: Washington. 271p. 2002.

CAPÍTULO 2

QUANTIFICAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS NÃO-AMIDÍCOS (PNAs) E ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE PRODUTIVIDADE, COMPONENTES BIOQUÍMICOS E ANTINUTRICIONAIS DA SOJA

RESUMO

A alimentação de animais monogástricos representa em média 75% do custo total da produção. O grão de soja é a principal fonte protéica para esses animais, entretanto, a soja apresenta em sua parede celular além da porção amídica, carboidratos, denominados polissacarídeos não-amídicos (PNAs), que apresentam função quase que exclusivamente estrutural nas plantas e existem em várias formas na natureza. Devido a natureza de suas ligações, os PNAs são resistentes a hidrólise no trato gastrointestinal dos animais não ruminantes. Estes compostos não causam sintomas de toxicidade, mas apresentam propriedades antinutritivas que podem afetar o desempenho desses animais. Dependendo da solubilidade dos seus constituintes, os PNAs são classificadas em solúveis e insolúveis. As propriedades antinutricionais dos PNAs está principalmente na porção solúvel. Em geral os PNAs solúveis possuem a capacidade de interagir com uma grande quantidade de água, aumentando significativamente a viscosidade do fluido intestinal e consequentemente interferindo na difusão dos nutrientes, das enzimas digestivas e diminuindo as interações com a mucosa intestinal. Este trabalho teve os seguintes objetivos; adaptar uma metodologia para a determinação de polissacarídeos não-amídicos em grãos de soja, com base na técnica cromatográfica de HPLC; estimar as correlações entre produtividade, óleo e proteína em relação as concentrações de açúcares totais, açúcares solúveis e PNAs; identificar genótipos de soja com baixas concentrações de PNAs, carboidratos totais e açúcares solúveis, visando o seu uso na alimentação de monogástricos. Para isto, foram utilizados seis genótipos de soja cultivados no Município de Mineiros-GO, no ano agrícola 2006/2007. Os experimentos foram conduzidos em blocos casualizados, com duas repetições. Foram determinadas as concentrações de proteína e óleo utilizando-se um espectrômetro infravermelho (NIR); as concentrações de açúcares solúveis e PNAs por HPLC. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do aplicativo computacional em genética e estatística, Programa GENES. Foi demonstrado que a metodologia adaptada para quantificar fatores antinutricionais termoestáveis, tais como, os Polissacarídeos não-amídicos em soja, utilizando a técnica cromatográfica HPLC, se mostrou de boa precisão. Não foram encontradas correlações significativas entre Produtividade vs PNAs, Óleo vs PNAs e Proteína vs PNAs entre os seis genótipos analisados. O fato desses caracteres não estarem correlacionados facilita a seleção de genótipos com melhor qualidade nutricional, pois possibilita ao melhorista diminuir as concentrações de PNAs totais, PNAs insolúveis e principalmente os PNAs solúveis, sem afetar a produtividade e as concentrações de óleo ou de proteína. As variáveis produtividade e concentração de óleo apresentaram altos e

positivos coeficientes de correlação com as concentrações de carboidratos totais e açúcares solúveis, indicando a dificuldade de fazer seleção direta de indivíduos com alta produtividade ou altas concentrações de óleo e ao mesmo tempo, com baixas concentrações de carboidratos totais e açúcares solúveis. Proteína correlacionou-se negativamente com as concentrações de carboidratos totais e açúcares solúveis, esse resultado favorece a seleção de genótipos com alta concentração de proteína e com baixas concentrações de carboidratos totais e açúcares solúveis.

1. INTRODUÇÃO

Os alimentos derivados de planta contêm uma grande variedade de polissacarídeos (polímeros dos açúcares unidos por ligações glicosídicas), que podem ser separados em dois grupos com base na estrutura e da função. Os amidos são polissacarídeos de armazenamento e são quimicamente identificados como polímeros de glicose com ligações α -glicosídica. O restante, que não contêm nenhuma ligação α -glicosídica, são em sua maior parte, componentes estruturais das paredes celulares de planta, e pode ser referidos convenientemente como polissacarídeos não-amídicos (PNAs).

A soja é a principal fonte protéica em dietas de animais monogástricos em todo mundo, mas seu uso para determinadas espécies é limitado pela presença de uma ampla variedade de fatores antinutricionais presentes no grão (FRANCIS *et al.* 2001; ANDERSON *et al.* 1995). Alguns experimentos mostraram que alimentos de soja quando utilizados em quantidades substanciais na alimentação de animais monogástricos limitou o crescimento desses animais, principalmente por aumentar a viscosidade do bolo alimentar e consequentemente reduzir a digestibilidade dos nutrientes (SMITS *et al.* 1996; KORNEGAY *et al.* 1978; SKREDE *et al.* 1985). ZHANG *et al.* (2003) observou que animais monogástricos quando alimentados com alimentos a base de soja tinham uma incidência alta de diarreia e mudanças morfológica indesejáveis do epitélio intestinal.

Alguns fatores antinutricionais no grão de soja são termolábeis e podem ser inativados ou superados principalmente com tratamento térmico, enquanto que fatores antinutricionais termoestáveis, tais como, os polissacarídeos não-amídicos (PNAs) e os oligossacarídeos, não são eliminados com esse tipo de tratamento (FRANCIS *et al.* 2001; LESKE *et al.* 1993).

Alimentos de soja crua contem aproximadamente 30% de carboidratos: aproximadamente 20% são PNAs e 10% são açúcares solúveis (SNYDER *et al.* 1987). Os PNAs são constituídos principalmente por arabinanos, arabinogalactanos, e polissacarídeos ácidos. Aproximadamente um terço dos PNAs são solúveis (KNUDSEN *et al.* 1997).

Os oligossacarídeos primários em soja são os galacto-oligossacarídeos, rafinose, estaquiose e verbascose (KARR - LILIENTHAL *et al.* 2005). Tanto os oligossacarídeos de rafinose como os PNAs são conhecidos por causar desordens digestivas e por reduzirem o desempenho de animais monogástricos (SMITS *et al.* 1996; REFSTIE *et al.* 1999; COON *et al.* 1990).

CHEN e BUSS (2004) detectaram em bancos de germoplasma de soja que o conteúdo de açúcares solúveis totais, que inclui os teores dos oligossacarídeos rafinose e estaquiose além dos teores de sacarose e de monossacarídeos, varia de 4,1% a 15,1% em base seca. A sacarose é o principal componente desta classe, correspondendo aproximadamente a 60% do total de açúcares solúveis. A variação detectada para o teor de sacarose em bancos de germoplasma é de 1,5% a 10,2%. Estes mesmos autores relataram que recentemente foi identificada uma linhagem contendo 13,6% de sacarose, mostrando que existe variabilidade natural suficiente para permitir o melhoramento da soja para altos teores deste açúcar.

Os oligossacarídeos rafinose e estaquiose estão presentes em concentrações que variam 0,1% a 2,1% e 1,4% a 6,7%, respectivamente (CHEN e BUSS, 2004), evidenciando que existe variabilidade genética suficiente para permitir o melhoramento da soja para baixos conteúdos de rafinose e estaquiose.

Sendo assim identificar genótipos de soja com baixas concentrações de PNAs e oligossacarídeos aumentaria potencialmente a utilização da soja como fonte protéica, os quais podem ser utilizados principalmente na produção de farelo e concentrado protéico e serem destinados para a alimentação de animais monogástricos.

2. OBJETIVOS

- Adaptar uma metodologia para a determinação de polissacarídeos não-amídicos em grãos de soja, com base na técnica cromatográfica de HPLC;
- Estimar as correlações entre produtividade, óleo e proteína em relação as concentrações de PNAs totais, PNAs insolúveis e PNAs solúveis.
- Identificar genótipos de soja com baixas concentrações de PNAs, visando o seu uso na alimentação de animais monogástricos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material genético

Foram avaliados 6 genótipos de soja, fornecidos pela empresa COOPADAP (Cooperativa Agropecuária do Alto Paranaíba), (Tabela 1). Os quais foram plantados no Município de Mineiros no Estado de Goiás, no ano agrícola 2006/2007.

Tabela 1 - Lista dos 6 genótipos de soja fornecidos pela empresa COOPADAP plantados no Município de Mineiros no Estado de Goiás no ano agrícola 2005/2006

1 - CS 02 521		4 - CS 02 731
2 - MSOY 8001		5 - ELITE
3 - VENCEDORA		6 - CS 02 564

O experimento foi conduzido com os seis genótipos, no delineamento em blocos casualizados, com três repetições. Cada repetição foi constituída de quatro fileiras de 5 m de comprimento, plantadas em espaçamento de 0,5 m. A área útil da parcela foi constituída apenas pelas plantas presentes nos 4 m internos das duas fileiras centrais. A parte de extração dos açúcares foi realizada no laboratório de Análises Bioquímicas do Instituto de Biotecnologia Aplicada á Agropecuária (Bioagro - UFV). Já as análises dos açúcares ocorreram no laboratório de Celulose e Papel da Universidade Federal de Viçosa.

3.2. Análise dos Polissacarídeos não-amídicos (PNAs)

As sementes de soja foram moídas, divididas e pesadas em sub-amostras representativas (A e B) de modo que puderam ser avaliadas. Para a determinação de PNA total e PNA insolúvel, foram utilizados 300 mg de soja moída e seca de cada sub-amostra. O PNA solúvel foi determinado pela diferença entre o PNA total e o PNA insolúvel. A composição desses açúcares foi determinada com base na metodologia desenvolvida por ENGLYST *et al.* (1994), a qual foi adaptada para as condições específicas deste trabalho. Os ensaios foram conduzidos em duplicatas para cada sub-amostra.

3.2.1. Extração dos Polissacarídeos não amídicos (PNAs)

Para a delipidação e secagem da amostra, foram adicionados 40 mL de acetona e as amostras foram agitadas por 30 minutos, com auxílio de barra magnética. Logo em seguida, as amostras foram centrifugadas a 1.000 x g. O sobrenadante foi descartado e os tubos foram colocados em uma estufa a 75 °C para a evaporação total da acetona. Após a secagem do resíduo, foi feito um pré-equilíbrio da amostra com tampão acetato de sódio 0,1 M, pH 5,2, à 50 °C, seguido por uma dispersão do resíduo com 2 mL de dimetil sulfoxido (DMSO) por 10 min a 100 °C. Logo após a retirada dos lipídios e dispersão do resíduo, foram realizadas duas etapas de hidrólise enzimática para extrair o amido. A primeira extração foi feita adicionando 8 mL da solução enzimática de alfa amilase (Termamyl) ao resíduo de cada tubo, os quais foram incubados em banho-maria fervente por 10 min. Em seguida, os tubos foram transferidos para outro banho a 50 °C por 3 min, e então, foram adicionados 500 µL da solução enzimática 2 (pululanase), mantendo-se os tubos em banho-maria por 30 min a 50 °C. Logo após, os tubos foram transferidos e incubados por 10 min em banho-maria a 100 °C. Até esta etapa, as duas sub-amostras (A e B) tiveram o mesmo tratamento.

3.2.2. Precipitação e lavagem do resíduo para medir os PNAs totais: Apenas para a sub-amostra A

Após as duas etapas de hidrólise enzimática, as amostras foram resfriadas em banho de gelo e água e, então, foram adicionados 150 µL de HCl 5M a cada tubo, os quais permaneceram em banho de gelo e água (0 °C) por 5 min. Em seguida, adicionou aos tubos 40 mL de etanol absoluto acidificado e as amostras foram mantidas em banho de gelo e água por 30 min. Logo após, as amostras foram centrifugadas por 10 min a 1.500 x g. O sobrenadante foi descartado e o resíduo lavado com etanol 85% e 100% da seguinte forma:

- Foram adicionados 10 mL de etanol acidificado 85% (v/v) e agitados em vortex;
- Em seguida adicionou-se mais 50 mL de etanol acidificado 85% (v/v) e então misturados por inversões repetidas. Logo após os tubos foram centrifugados a 1.500 x g por 10 min, após a centrifugação o sobrenadante foi retirado e descartado. Este passo foi repetido mais uma vez com 50 mL de etanol absoluto;

- Então foram adicionados 30 mL de acetona a cada tubo e agitados em vortex. Em seguida os mesmos foram centrifugados a 1.500 x g por 10 min. O sobrenadante foi descartado e os tubos foram colocados em uma estufa a 75 °C para a evaporação total da acetona.

3.2.3. Extração e lavagem do resíduo para medir os PNAs insolúveis: Apenas para a sub-amostra B

Após o tratamento enzimático na etapa 3.2.1, adicionou-se 40 mL de tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 5,2 e os tubos tampados foram incubados em banho-maria fervente por 30 min agitando continuamente as amostras por repetidas inversões. Logo em seguida, os tubos foram resfriados à temperatura ambiente e centrifugados a 1.500 x g por 10 min. O sobrenadante foi descartado e 10 mL de água foram adicionados ao resíduo e misturados por inversão. Cinquenta mL adicionais de água foram colocados em cada tubo, os quais foram agitados por repetidas inversões e centrifugados a 1.500 x g por 10 min. O sobrenadante foi descartado, e a etapa anterior foi repetida com 50 mL de etanol absoluto, como descrito acima. Ao resíduo foram adicionados 30 mL de acetona e misturados em vortex. Em seguida os mesmos foram centrifugados a 1.500 x g por 10 min. O sobrenadante foi descartado e os tubos foram colocados em uma estufa a 75 °C para a evaporação total da acetona. É importante remover todos os traços de acetona da amostra para a etapa seguinte.

3.2.4. Hidrólise ácida do resíduo

Foram adicionados 5 mL de ácido sulfúrico 12 M a cada tubo e imediatamente estes foram misturados em vortex. Os tubos foram colocados em banho-maria a 35 °C por 30 min. Logo em seguida adicionou-se 25 mL de água e os tubos foram misturados por inversões. Em seguida os tubos transferidos para um banho-maria fervendo 100 °C por 1h, após isso os mesmos foram resfriados em água da torneira.

3.2.5. Determinação dos monossacarídeos constituintes dos PNAs por HPLC

Após a etapa de hidrólise, as amostras foram filtradas a vácuo em membrana de 47 mm de diâmetro e 0,45 µm de porosidade. O filtrado foi transferido para um balão volumétrico de 250 mL, sendo o volume completado com água. Logo em seguida foram

adicionados 2,5 mL do padrão interno (fucose) e 2,5 mL do hidrolisado em um balão de 25 mL, sendo o volume completado com água deionizada.

Os monossacarídeos foram separados e medidos por HPLC (Cromatografia Líquida de Alto Desempenho) da marca Dionex equipado com uma coluna CarboPac PA1 4 x 250 MM tendo como fase móvel água deionizada e hidróxido de sódio 0,3 mol/L e 0,1 mol/L; o fluxo foi de 1 mL/min; a temperatura da coluna de 27°C e a detecção do tipo amperométrica pulsada.

Para analisar os monossacarídeos dos hidrolisados foi preciso preparar uma mistura padrão de açúcares, misturando 1 mL da mistura estoque de açúcar para HPLC e 5 mL de ácido sulfúrico 2,4 M, segundo o método desenvolvido por ENGLYST *et al*, 1994. Em seguida aplicou-se 2 x 0,15 mL desta mistura padrão do açúcar para a calibração da HPLC paralelamente aos hidrolisados. Foram injetados 25 µL para a análise dos mesmos. Após as corridas de calibração um volume de 20 µL de cada amostra resultante da hidrólise foi injetado e analisado no cromatógrafo e cada açúcar presente foi identificado e quantificado por comparação com os tempos de retenção e concentrações dos açúcares nas soluções padrões.

3.2.6. Cálculo de PNA total, solúveis e insolúveis

A quantidade de PNA total, solúvel e insolúvel (em gramas por 100 g) foi calculado como:

- PNA total = açúcares neutros calculados por porção A
- PNA insolúvel = açúcares neutros calculados por porção B
- PNA solúvel = PNA total - PNA insolúvel.

3.2.7. Determinação dos ácidos urônicos

3.2.7.1. Preparo das amostras

A determinação dos ácidos urônicos nas amostras seguiu a metodologia proposta por ENGLYTS e CUMMING (1984). Para isso foi utilizado o mesmo hidrolisado para a determinação dos PNAs. Do hidrolisado filtrado do balão de 250 mL foram pipetados 300 µL e colocados num tubo de ensaio de 10 mL e diluído com água, se necessário, para obter de 25 a 100 µg de ácido urônico/mL. No tubo de ensaio adicionou-se 300 µL da solução de

cloreto de sódio/ácido bórico. Também foram adicionado 5 mL de ácido sulfúrico concentrado e misturou-se com agitador vortex imediatamente. Após esta etapa, os tubos foram aquecidos a 70 °C por 40 minutos e, a seguir, resfriados à temperatura ambiente utilizando água fria. Em seguida adicionou-se 200 µL da solução de 3,5-dimetilfenol e misturou-se imediatamente com agitador vortex. Por fim os tubos de ensaio ficaram em repouso, à temperatura ambiente, por 10 a 15 minutos.

3.2.7.2. Quantificação dos ácidos urônicos por espectrofotômetro

As absorbâncias das amostras foram medidas a 400 e 450 nm utilizando, também, água como branco. Da leitura de 400 nm foi subtraída a de 450nm e foi determinada a concentração de ácidos urônicos, expressa em µg/mL, a partir da curva de calibração de padrões de ácidos urônicos (25-150 µg/mL).

O valor obtido através da curva de calibração foi multiplicado pelo volume total do hidrolisado (250 mL). O valor obtido foi dividido pelo peso da amostra que foi de 300 mg. O conteúdo de ácidos urônicos foi expresso em g/100g.

3.3. Método da absorção no infravermelho

As concentrações de proteínas e óleo das sementes dos 6 genótipos foi determinado utilizando um espectrômetro infravermelho (NIR, equipamento Agrosystem, modelo instalab 600 product analyzer). Foram coletadas sementes (cerca de 10 gramas) de cada um dos 6 indivíduos. As sementes foram trituradas em um moinho apropriado gerando granulometria adequada para a leitura de absorbância no equipamento NIR.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Polissacarídeos não-amídicos totais

A concentração de Polissacarídeos não-amídicos totais (PNAs), como a soma dos monossacarídeos constituintes está representada na Tabela 2. A linhagem CS 01 731 e a variedade MSOY 8001 foram estatisticamente superiores aos demais genótipos analisados de acordo com o teste de Duncan ($p \leq 0.05$). A concentração de monossacarídeos (Tabela 2) está de acordo com os resultados relatados por IRISH e BALNAVE (1993), HUISMAN *et al.* (1998), GUILLON *et al.* (2000), HUISMAN (2000) e GUILLON & CHAMP (2002).

Entre os seis genótipos analisados no presente trabalho, a glicose foi o principal monossacarídeo dos PNAs totais, entretanto, os genótipos apresentaram concentrações significativos de galactose, ácidos urônicos, xilose e arabinose, estes resultados estão de acordo com os trabalhos de HALLUNG *et al.* (2005) e REDONDO-CUENCA (2005).

Tabela 2 – Concentração média de PNAs totais, Concentração de Ácido Urônico e concentração de monossacarídeos individuais de seis genótipos de soja, expresso em g/100g

Genótipos	Glicose	Xilose	Galactose	Manose	Arabinose	Ac. Urônicos	PNA Total
1 – CS 02 521	5,28c	1,81a	3,34a	0,715a	2,20a	2,60c	15,96bc
2 – MSOY 8001	5,52b	1,57b	3,38a	0,596d	2,11ab	3,55ab	16,74a
3-VENCEDORA	4,89d	1,48bc	3,32a	0,674ab	2,00bc	3,10b	15,46cd
4 - CS 02 731	5,89a	1,61b	2,762b	0,643bc	1,99bc	3,60a	16,51a
5 - ELITE	5,46bc	1,46bc	2,77b	0,615cd	1,94c	3,70a	15,96bc
6 - CS 02 564	4,46e	1,38c	2,924b	0,714a	1,93c	3,70a	15,12d

As médias seguidas por letras iguais na vertical não diferem entre si significativamente ao nível de $p \leq 0.05$, pelo teste de Duncan

Altas concentrações de ácidos urônicos, galactose e arabinose segundo REDONDO-CUENCA *et al.* (2005) podem corresponder ao polissacarídeo arabinogalactana, em que a cadeia principal consiste de resíduos de ácido D-galacturônico e L-rhamnose e a cadeia lateral é composta por galactose e arabinose. Arabinogalactana são substâncias pécicas da fração solúvel dos polissacarídeos não-amídicos (HUISMAN, 2000; HUISMAN *et al.* 1998; VAN DE VIS, 1994).

4.2. Polissacarídeos não-amídicos insolúveis

A tabela 3 mostra os valores médios dos monossacarídeos (açúcares neutros e ácidos urônicos) para a fração dos polissacarídeos não-amídicos insolúveis, expressa em g/100g. A concentração de PNAs insolúveis não diferiram significativamente entre os seis genótipos analisados. Entretanto a concentração de PNAs insolúveis encontrado no presente trabalho está de acordo com REDONDO-CUENCA *et. al* (2005).

O principal componente dos PNAs insolúveis foi a glicose, variando de 32 à 43% entre os seis genótipos analisados. Isso indica que a celulose foi polissacarídeo predominante, pois a celulose é formada por resíduos de glicose (REDONDO-CUENCA *et. al* 2005). O genótipo que diferiu estatisticamente dos outros genótipos e apresentou a maior média para esta variável foi à linhagem CS 02 731. Enquanto que a linhagem CS 02 564 apresentou a menor concentração de glucose (Tabela 3).

Tabela 3 – Concentração média de PNAs insolúvel, Concentração de Ácido Urônico e concentração de monossacarídeos individuais de seis genótipos de soja, expresso em g/100g

Genótipos	Glicose	Xilose	Galactose	Manose	Arabinose	Ac. Urônicos	PNA Insolúvel
1 – CS 02 521	4,75b	1,54a	2,35ab	0,49a	1,62a	1,75b	12,52a
2 – MSOY 8001	4,41b	1,25b	2,53a	0,44a	1,74a	1,95b	12,32a
3 - VENCEDORA	4,44b	1,20b	2,38ab	0,48a	1,52a	2,01b	12,05a
4 - CS 02 731	5,35a	1,33ab	2,03c	0,47a	1,48a	2,55a	13,22a
5 - ELITE	4,64b	1,31ab	1,73d	0,42a	1,47a	2,70a	12,29a
6 - CS 02 564	3,86c	1,21b	2,19bc	0,47a	1,55a	2,72a	12,03a

As médias seguidas por letras iguais na vertical não diferem entre si significativamente ao nível de $p \leq 0.05$, pelo teste de Duncan

A concentração de ácidos urônicos dos PNAs insolúveis variaram de 22 à 13% (Tabela 3). Pode ser observado que dois grupos significativamente diferentes a ($p \leq 0.05$) de probabilidade foram formados. O Grupo A foi formado pelas linhagens CS 02 731, CS 02 564 e pela cultivar ELITE. O grupo B foi constituído pela linhagem CS 02 521 e pelas cultivares MSOY 8001 e VENCEDORA.

Houve moderada concentração de arabinose e xilose e baixa concentração de manose. Não ocorreram diferenças significativas para as concentrações de manose e arabinose, sendo concordante com resultados de REDONDO-CUENCA *et. al* (2005). De

acordo com a literatura, a alta concentração de xilose pode ser atribuída a presença de xiloglucanos como o principal polissacarídeo hemicelulósico da parede celular em soja (HUISMAN, 2000). IRISH e BALNAVE (1993) encontraram em seu trabalho concentrações de fibra solúvel semelhantes ao apresentado no presente trabalho.

4.3. Polissacarídeos não-amídicos solúveis

A concentração de polissacarídeos não-amídicos solúveis (Tabela 4) foi menor, quando comparado com as concentrações de PNAs totais e insolúveis. Segundo KNUDSEN (1997) e HOLLUNG *et. al* (2005) aproximadamente um terço dos PNAs totais são constituintes da fração solúvel.

O teste de média indicou a cultivar MSOY 8001 como o genótipo que apresentou maior média de PNAs solúveis (Tabela 4). Os outros cinco genótipos não apresentaram diferenças significativas a $p \leq 0.05$ de probabilidade.

Os PNAs solúveis apresentaram alta concentração de ácidos urônicos (aproximadamente de 25 à 36%), galactose (22 à 28%) e concentrações moderadas de glicose e arabinose. Os mesmos monossacarídeos foram relatados como sendo os principais constituintes das fibras solúveis por HOLLUNG *et. al* (2005), MAEDA (2000) e IRISH e BALNAVE (1993).

Os PNAs solúveis são derivados das frações solúveis da hemicelulose e da pectina. Sendo assim, a moderada concentração de ácidos urônicos encontrados nos materiais analisados, pode ser resultante ao fato, das fibras solúveis serem composta em parte pela pectina, e as mesmas serem constituídas principalmente por resíduos de ácidos urônicos. Enquanto que as concentrações moderadas de glicose, xilose e galactose, encontrados nos PNAs solúveis, podem ser atribuídos a fração solúvel da hemicelulose que é formada por β -Glucanos, D-xilanos, D-mananos e xiloglucanos.

Tabela 4 – Concentração média de PNAs solúvel, Concentração de Ácido Urônico e concentração de monossacarídeos individuais de seis genótipos de soja, expresso em g/100g

Genótipos	Glicose	Xilose	Galactose	Manose	Arabinose	Ac. Urônicos	PNA Solúvel
1 – CS 02 521	0,53b	0,26a	0,99a	0,22a	0,58	0,85c	3,44b
2 – MSOY 8001	1,12a	0,31a	0,85a	0,14a	0,37a	1,60a	4,41a
3 - VENCEDORA	0,44b	0,27a	0,93a	0,19a	0,47a	1,10b	3,41b
4 - CS 02 731	0,54b	0,28a	0,72a	0,17a	0,50a	1,05b	3,28b
5 - ELITE	0,82ab	0,15a	1,03a	0,18a	0,47a	1,00bc	3,67ab
6 - CS 02 564	0,57b	0,16a	0,70a	0,23a	0,38a	0,97bc	3,08b

As médias seguidas por letras iguais na vertical não diferem entre si significativamente ao nível de $p \leq 0.05$, pelo teste de Duncan

As propriedades antinutricionais dos PNAs estão presentes principalmente na porção solúvel. Em especial os PNAs solúveis são capazes de se ligarem a grande quantidade de água, aumentando, dessa forma, a viscosidade do fluido (ROSA & UTTAPATEL, 2007), interferindo na difusão dos nutrientes e das enzimas digestivas e suas interações com a mucosa intestinal. Porém, outros efeitos como o aumento ou diminuição da taxa de transito do alimento e interação com a microflora bacteriana podem ocorrer (CHOT, 2002).

A soja é a principal fonte de proteína para animais monogástricos em todo mundo, alimentação desses animais representa 75% do custo total de produção. Nesse sentido, se torna importante a busca de genótipos de soja com baixa concentração de PNAs solúveis, para serem utilizados em uma programa de melhoramento de soja, visando o aumento da qualidade bioquímica e nutricional do grão. Visto que genótipos mais adequados a alimentação desses animais diminuiria custo de produção, assim como tempo de permanências desses animais nas granjas antes do abate.

4.4. Análise de correlação da produtividade, concentrações de óleo e proteína em relação às concentrações de PNAs

Um aspecto genético de grande valor para o melhoramento de plantas, que deve receber atenção dos melhoristas, fisiologistas vegetais e dos bioquímicos, é a estimativa das correlações entre os caracteres, pois esta reflete o grau de associação entre esses caracteres. O seu conhecimento é importante porque mostra como a seleção para um caráter influencia a expressão de outros caracteres. Nos programas de melhoramento, geralmente, além de se visar o aprimoramento de um caráter principal busca-se também manter ou melhorar a expressão de outros caracteres (PIOVESAN, 2008).

As estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre os pares de caracteres (produtividade, proteína, óleo, PNAs Totais, PNAs Insolúveis e PNAs Solúveis) avaliados neste trabalho, encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5 - Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre as características: Produtividade, Óleo, Proteína em relação às concentrações de PNAs totais, PNAs insolúveis e PNAs solúveis analisadas nos seis genótipos de soja

	PNAs Totais	PNAs Insolúveis	PNAs Solúveis
Produtividade	-0,07	-0,18	0,07
Óleo	-0,21	-0,48	0,17
Proteína	- 0,005	0,44	- 0,42

**, * : Significativo a 1 e 5% de probabilidade, pelo teste t.

Produtividade e as concentrações de óleo e proteína não apresentou associação significativa ($p \leq 0.05$) de probabilidade com as concentrações de PNAs totais, PNAs insolúveis e PNAs solúveis (Tabela 5).

Essa ausência de correlação favorece a seleção de genótipos mais produtivos com altas concentrações de óleo e proteína e baixas concentrações de polissacarídeos não-amídicos, principalmente a fração solúvel dos PNAs, as quais são consideradas antinutritivas na alimentação de animais monogástricos.

. Sendo assim, podemos inferir que é importante buscar genótipos de soja que apresentem proporcionalmente uma alta produtividade, alto conteúdo de proteína e baixas concentrações de PNAs, principalmente a fração considerada antinutricional em soja. Os

mesmos poderiam ser para alimentação de animais monogástricos, na forma de farelo e concentrado protéico, diminuindo assim o custo de produção desses animais e aumentando o desempenho desses animais.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitiram as seguintes conclusões:

- Foi demonstrado no presente trabalho, que a metodologia adaptada para quantificar fatores antinutricionais termoestáveis, tais como, os Polissacarídeos não-amídicos em soja, utilizando a técnica cromatográfica HPLC, se mostrou de boa precisão. Sendo assim, a quantificação desses PNAs a partir da cromatografia líquida pode ajudar o Programa de Melhoramento da Qualidade da Soja desenvolvido BIOAGRO/UFV, à selecionar genótipos de soja com melhor qualidade nutricional destinadas a alimentação de animais monogástricos;
- Não foi encontrada correlações significativas entre Produtividade vs PNAs, Óleo vs PNAs e Proteína vs PNAs entre os seis genótipos analisados. O fato desses caracteres não estarem correlacionados facilita a seleção de genótipos com melhor qualidade nutricional, pois possibilita ao melhorista diminuir os conteúdos de PNAs totais, PNAs insolúveis e principalmente os PNAs solúveis, sem afetar a produtividade e os conteúdos de óleo ou de proteína;

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, R. L., WOLF, W. J. Compositional changes in trypsin inhibitors, phytic acid, saponins, and isoflavones related to soybean processing. *J. Nutr.* v.125, p.581-588, 1995.

CHEN, P., BUSS, G.R. Breeding soybeans for the soyfood market: specific traits and strategies for selection. In: **IV International Soybean Processing and Utilization Conference**. Foz do Iguaçu, PR, Brazil. Proceedings. p.830-838, 2004.

CHOCT, M. Non-starch polysaccharides: effect on nutritive value In: Poultry feedstuffs: supply, composition and nutritive value In: MACNAB, J.M. e BOORMAN, K.N. (eds.) **Factors influencing nutritive value**. CAB International. p.221-235, 2002.

COON, C. N., LESKE, K. L., AKAVANICHAN, O., CHENG, T. K. Effect of oligosaccharide-free soybean meal on true metabolizable energy and fiber digestion in adult roosters. **Poult. Sci.** v.69, p.787-793, 1990.

ENGLYST, H.N & CUMMINGS, J. H. Simplified method for the measurement of total non-starch polysaccharides by gas-liquid chromatography of constituent sugars acetates. **Analyst** 109: 934-942. 1984.

ENGLYST, H.N., QUIGLEY, M.E., HUDSON, G.J. Determination of Dietary Fibre as Non-starch Polysaccharides With Gas-Liquid Chromatographic, High-performance Liquid Chromatographic or Spectrophotometric Measurement of Constituent Sugars. **Analyst**, v.119, July 1994.

FRANCIS, G., MAKKAR, H. P. S., BECKER, K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. **Aquaculture**, v.199, p.197-227, 2001.

GUILLON, F., CHAMP, M., & THIBAUT, J. F. Dietary fibre functional products. In G. R. Gibson & C. M. Williams (Eds.), **Functional foods**. Cambridge: Woodhead Publishing, p. 315–355, 2000.

GUILLON, F. & CHAMP, M. M. J. Carbohydrate fractions of legumes: uses in human nutrition and potential for health. **British Journal of Nutrition**, v.3, p.293–306, 2002.

HOLLUNG, K., OVERLAND, M., HRUSTICA, M., SEKULICA, *et. al.* Evaluation of Nonstarch Polysaccharides and Oligosaccharide Content of Different Soybean Varieties (Glycine max) by Near-Infrared Spectroscopy and Protomics. **J. Agric. Food Chem.** V.53, p.9112-9121, 2005.

HUISMAN, M. M. H., SCHOLS, H. A. & VORAGEN, A. G. J. Cell wall polysaccharides from soybean (Glycine max.) meal. **Isolation and characterisation. Carbohydrate Polymers**, v.37, p.87–95, 1998

HUISMAN, M. M. H. **Elucidation of the chemical fine structure of polysaccharides from soybean and maize kernel cell walls**. Ph.D. thesis, Wageningen University, Netherlands, 2000.

IRISH, G. G. & BALNAVE, D. Non-starch polysaccharides and broiler performance on diets containing soybean meal as the sole protein concentrate. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.44, p.1483–1499, 1993.

KARR-LILIENTHAL, L. K., KADZERE, C. T., GRIESHOP, C. M.; Fahey, G. C., Jr. Chemical and nutritional properties of soybean carbohydrates as related to non-ruminants: A review. **LiVestock Prod. Sci.** 2005, in press.

KNUDSEN, K. E. B. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. **Anim. Feed Sci. Technol.** v.67, p.319-338, 1997.

KORNEGAY, E. T. Feeding value and digestibility of soybean hulls for swine. **J. Anim. Sci.** v.47, p.1272-1280, 1978.

LESKE, K. L., JEVNE, C. J., COON, C. N. Effect of oligosaccharide additions on nitrogen-corrected true metabolizable energy of soy protein concentrate. **Poult. Sci.** v. 72, p.664-668, 1993.

MAEDA, H. Soluble soybean polysaccharide. In G. O. Phillips & P. A. Williams (Eds.), **Handbook of hydrocolloids**. Cambridge: Woodhead Publishing, 2000.

PIOVESAN, N.D. **Desenvolvimento de linhagens de soja com alto teor protéico e produtivas: avaliação de estratégias e critérios de seleção e mapeamento de locos que controlam o conteúdo de proteína nos grãos**. Viçosa MG: UFV, 2008. 141p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, 2008.

REDONDO-CUENCA, A., VILLANUEVA-SUÁREZ M.J. RODRÍGUEZ-SEVILLA, M.D., MATEOS-APARICIO, I. Chemical composition and dietary fibre of yellow and green commercial soybeans (*Glycine max*). **Food Chemistry**, v.101, p.1216–1222, 2005.

ROSA, A.P & UTTPATEL, R. Uso de enzimas nas dietas para frangos de corte. IN: VIII SIMPOSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA. **Anais**. Chapeco, p.102-115, 2007.

REFSTIE, S., SVIHUS, B., SHEARER, K. D., STOREBAKKEN, T. Nutrient digestibility in Atlantic salmon and broiler chickens related to viscosity and non-starch polysaccharide content in different soyabean products. **Anim. Feed Sci. Technol.** v.79, p.331-345, 1999.

SKREDE, A.; KROGDAHL, A. Heat affects nutritional characteristics of soybean meal and excretion of proteinases in mink and chicks. **Nutr. Rep. Int.** v.32, p.479-489, 1985.

SMITS, C. H. M., ANNISON, G. Non-starch plant polysaccharides in broiler nutrition: Towards a physiologically valid approach to their determination. **Worlds Poult. Sci. J.** v.52, p.203-221, 1996.

SNYDER, H. E., KWON, T. W. **Soybean Utilization**; Van Nostrand Reinhold: New York, p-60, 1987.

VAN DE VIS, J. W. **Characterization and mode of action of enzymes degrading galactan structures of arabinogalactans**. Ph.D. thesis, Wageningen University, Netherlands, 1994.

ZHANG, L. Y., LI, D. F., QIAO, S. Y., JOHNSON, E. W., LI, B. Y., THACKER, P. A., HAN, I. K. Effects of stachyose on performance, diarrhoea incidence, and intestinal bacteria in weanling pigs. *Arch. Anim. Nutr.-Archiv. Fur Tierernahrung*, v.57, p.1-10, 2003.