

LORENA DE OLIVEIRA MOURA

**CARACTERES AUXILIARES PARA A TOLERÂNCIA DE ABERTURA DE
VAGENS IMATURAS EM GENÓTIPOS DE SOJA SOB DEFICIT HÍDRICO**

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

Orientador: Felipe Lopes da Silva

Coorientadores: Edgard Augusto de Toledo Picoli
Moysés Nascimento

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

M929c
2021

Moura, Lorena de Oliveira, 1991-
Caracteres auxiliares para a tolerância de abertura de vagens
imaturas em genótipos de soja sob deficit hídrico / Lorena de
Oliveira Moura. – Viçosa, MG, 2021.
103 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Felipe Lopes da Silva.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. *Glycine max* - Genética. 2. Plantas - Relações hídricas.
3. Vagem. 4. Estudo a associação genômica ampla.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Agronomia.
Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 633.342

Bibliotecário(a) responsável: Alice Regina Pinto Pires CRB6 2523

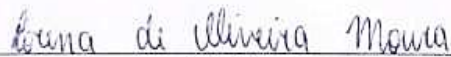
LORENA DE OLIVEIRA MOURA

**CARACTERES AUXILIARES PARA A TOLERÂNCIA DE ABERTURA DE
VAGENS IMATURAS EM GENÓTIPOS DE SOJA SOB DEFICIT HÍDRICO**

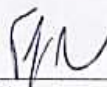
Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 30 de julho de 2021.

Assentimento:



Lorena de Oliveira Moura
Autora



Felipe Lopes da Silva
Orientador

À minha família, dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar força, sabedoria e esperança ao longo desta jornada.

A minha família, vocês são a minha maior força. Serei eternamente grata pelo amor, apoio, conselhos, paciência, incentivo, orações e por sempre terem acreditado nas minhas decisões.

Ao meu orientador Felipe Lopes da Silva pela amizade, apoio, ensinamentos e por confiar a mim o desenvolvimento desta tese. Professor, a sua humanidade é admirável.

Aos meus coorientadores, Edgard Picoli e Moysés Nascimento, por todos os ensinamentos e auxílio no desenvolvimento deste trabalho.

À Universidade Federal de Viçosa, ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia e a todos os professores, pela oportunidade de aprender e viver coisas incríveis.

Aos membros da banca de qualificação e defesa por todas as contribuições no meu trabalho.

A GDM Seeds pelo apoio financeiro e por nos confiar a realização desta pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de Doutorado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento - 001, para realização desse trabalho.

Aos pós-graduandos e estagiários do Programa de Melhoramento Genético de Soja por todo apoio e suporte na condução dos experimentos e análises.

Aos meus grandes amigos, pelos momentos de descontração e por serem a minha família em Viçosa: Heloisa, Natália, Michel, Iana, Martha, Fernanda, Maikon, Guilherme, Francisco, Isabella, Lucas, Bruno, Rafael, Ramon, Dalton, João Marcos, Ciene, Murilo e Lorena.

A todos que contribuíram de alguma maneira para que este trabalho fosse realizado.

Muito obrigada!

“A vida sem ciência é uma espécie de morte.”
Sócrates

RESUMO

MOURA, Lorena de Oliveira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2021. **Caracteres auxiliares para a tolerância de abertura de vagens imaturas em genótipos de soja sob deficit hídrico.** Orientador: Felipe Lopes da Silva. Coorientadores: Edgard Augusto de Toledo Picoli e Moysés Nascimento.

Recentemente, tem-se identificado a ocorrência da abertura de vagens imaturas em alguns genótipos de soja, que acontece quando estas ainda estão imaturas, no estágio de enchimento dos grãos. Sabe-se que esta abertura de vagens imaturas em soja é potencializada pelo deficit hídrico, contudo, mais pesquisas a respeito da característica são necessárias. Desta forma, os objetivos do trabalho foram: avaliar genótipos de soja sob influência do deficit hídrico, quanto à abertura de vagens imaturas, e sua correlação com outros caracteres agronômicos; associar aspectos da composição química e anatomia dos tecidos da vagem de soja quando da ocorrência da sua abertura de forma imatura na presença e ausência de deficit hídrico; e identificar regiões genômicas relacionadas à abertura de vagens imaturas de genótipos de soja submetidos ao deficit hídrico, através de associação genômica ampla (GWAS). Foram conduzidos dois experimentos, utilizando 99 genótipos de soja e dois tratamentos de irrigação, chamados de tratamento controle (com potencial hídrico de -33 kPa) e tratamento estresse (com potencial hídrico de -900 kPa). Nos dois experimentos, houve influência do deficit hídrico na porcentagem de vagens imaturas abertas (PVA) em alguns genótipos de soja avaliados. A PVA apresentou correlações significativas com alguns caracteres agronômicos relacionados às dimensões das vagens e dos grãos e alguns componentes de produtividade. A PVA também apresentou correlações significativas com alguns macros e micronutrientes (B, N, Mn e Mg), lignina e com algumas estruturas da sutura ventral da vagem. Além da influência do genótipo, o deficit hídrico contribui para as alterações estruturais e composição das células na região da sutura ventral e, assim favorecendo a abertura de vagens verdes de soja. No experimento 1, 11 SNPs significativos, relacionados à característica, foram identificados em oito cromossomos diferentes. No experimento 2, apenas um SNP significativo foi identificado. Os principais genes e proteínas relacionados aos marcadores identificados estão ligados às respostas das plantas ao estresse e à atividade da beta-glucosidase. Estes resultados fornecem informações importantes para a seleção de genótipos de soja tolerantes à abertura de vagens imaturas.

Palavras-chave: *Glycine max*. Escassez hídrica. Abertura de vagens verdes. Sutura ventral. GWAS.

ABSTRACT

MOURA, Lorena de Oliveira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2021. **Auxiliary characters for immature pod opening tolerance in soybean genotypes under water deficit.** Adviser: Felipe Lopes da Silva. Co-advisers: Edgard Augusto de Toledo Picoli and Moysés Nascimento.

Recently, it has been identified the occurrence of the opening of immature pods in some soybean genotypes, which happens when they are still immature, in the grain filling stage. It is known that this opening of immature pods in soybean is potentiated by the water deficit, however, more researches about the characteristic are needed. Thus, the objectives of the work were: to evaluate soybean genotypes under the influence of water deficit, regarding the opening of immature pods, and its correlation with other agronomic characters; associate aspects of the chemical composition and anatomy of the soybean pod tissues when its opening occurs immaturity in the presence and absence of water deficit; and identify genomic regions related to the opening of immature pods of soybean genotypes subjected to water deficit, through genomic wide association (GWAS). Two experiments were conducted, using 99 soybean genotypes and two irrigation treatments, called control treatment (with a water potential of -33 kPa) and stress treatment (with a water potential of -900 kPa). In both experiments, there was an influence of water deficit on the percentage of immature open pods (PVA) in some evaluated soybean genotypes. PVA showed significant correlations with some agronomic traits related to pod and grain dimensions and some yield components. PVA also showed significant correlations with some macro and micronutrients (B, N, Mn and Mg), lignin and with some structures of the ventral pod suture. In addition to the influence of the genotype, the water deficit contributes to structural changes and cell composition in the ventral suture region, thus favoring the opening of green soybean pods. In experiment 1, 11 significant SNPs, related to the trait, were identified on eight different chromosomes. In experiment 2, only one significant SNP was identified. The main genes and proteins related to the identified markers are linked to plant stress responses and beta-glucosidase activity. These results provide important information for the selection of soybean genotypes tolerant to the opening of immature pods.

Keywords: *Glycine max*. Drought. Opening of green pods. Ventral suture. GWAS.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14
CAPÍTULO 01 - ABERTURA DE VAGENS IMATURAS DE GENÓTIPOS DE SOJA SOB DEFICIT HÍDRICO	17
RESUMO	17
1 INTRODUÇÃO	18
2 MATERIAL E MÉTODOS	19
3 RESULTADOS	25
4 DISCUSSÃO	33
5 CONCLUSÃO	38
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
MATERIAL SUPLEMENTAR	43
CAPÍTULO 2 - MORFOANATOMIA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE VAGENS DE SOJA ABERTAS IMATURAMENTE SOB DEFICIT HÍDRICO	47
RESUMO	47
1 INTRODUÇÃO	49
2 MATERIAL E MÉTODOS	50
3 RESULTADOS	56
4 DISCUSSÃO	64
5 CONCLUSÃO	69
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
MATERIAL SUPLEMENTAR	75
CAPÍTULO 3 – ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA E GENES CANDIDATOS PARA RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE SOJA À ABERTURA DE VAGENS IMATURAS	76
RESUMO	76
1 INTRODUÇÃO	77
2 MATERIAL E MÉTODOS	78

3	RESULTADOS	82
4	DISCUSSÃO	90
5	CONCLUSÕES	93
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
	MATERIAL SUPLEMENTAR	100
	CONCLUSÕES GERAIS	103

INTRODUÇÃO GERAL

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma das leguminosas de maior importância econômica no mundo. Na safra 2020/2021, a área plantada com a cultura foi de 38,5 milhões de hectares brasileiros com uma produção que atingiu 135 milhões de toneladas (CONAB, 2021; FAS USDA, 2021). Com estes dados, o Brasil se estabelece como o maior produtor mundial de soja, ultrapassando a produção obtida pelos Estados Unidos pelo segundo ano consecutivo.

Alguns fatores foram fundamentais para que ocorresse o incremento da produtividade na cultura da soja a cada safra. Destacando-se o desenvolvimento de genótipos com alto potencial produtivo, com boa resistência a doenças (GARCIA et al., 2008; RAMALINGAM et al., 2020), utilização de tecnologia (YANG et al., 2020), adaptação dos materiais às variações ambientais (TRAN & MOCHIDA, 2010; SONG et al., 2016), desenvolvimento de cultivares de soja com característica de período juvenil longo (KIIHL et al., 1983) e domesticação da cultura por meio da seleção de materiais que apresentam indeiscência das vagens ao final do ciclo (FUNATSUKI et al., 2014; ZHANG & SINGH, 2020).

A deiscência das vagens é uma forma de dispersão natural de sementes em espécies selvagens de soja, em que as duas faces da vagem se desprendem e liberam as sementes (CHRISTIANSEN et al., 2002; FUNATSUKI et al., 2012; 2014). Neste processo, para que a separação ocorra, as forças físicas precisam desencadear o destacamento das células na camada de separação, em uma interação que envolve o enfraquecimento da adesão celular com as tensões fornecidas pelos tecidos circundantes ou agentes externos. Nas vagens, essas tensões geralmente vêm das paredes das vagens, mediadas pelas propriedades mecânicas dos tecidos lignificados e não lignificados e por meio das alterações no turgor associadas à maturação dos frutos (BALLESTER & FERRÁNDIZ, 2017; PATHARKAR & WALKER, 2019). Atualmente, por meio do melhoramento genético têm-se selecionado plantas que não apresentam ou que retardam a deiscência de vagens após o estágio de desenvolvimento R8 (caracterizado por plantas com 95% de vagens maduras, conforme escala proposta por FEHR & CAVINESS, 1977), devido às perdas significativas que podem ocorrer nos campos de produção de soja.

Além da deiscência, que ocorre no final do processo de maturação da planta de soja, um novo padrão de abertura de vagens tem sido observado, ocorrendo no final do estágio de desenvolvimento R5, com grãos em fase final do completo desenvolvimento (FEHR &

CAVINESS, 1977), quando as vagens ainda estão imaturas, verdes e as sementes com alta umidade, como mostrado na Figura 1.

Figura 1 - Aberturas de vagens imaturas de soja.



A causa da abertura de vagens imaturas ainda é incerta, podendo estar associada a características genéticas de cada cultivar ou a distúrbios fisiológicos, principalmente em situações de estresse provocado por fatores edafoclimáticos. A característica já foi associada às diferentes épocas de semeadura da soja (SANTOS & CECCATTO, 2018), ao desenvolvimento de antracnose (*Colletotrichum truncatum*) nas vagens (EMBRAPA, 2007), à deficiência de potássio no solo (MASCARENHAS et al., 2013) e ao deficit hídrico (PALHARINI, 2016).

Eventos climáticos como o deficit hídrico têm influência negativa na produtividade e em outras características importantes da planta de soja (SILVENTE, 2012). O estresse por deficiência hídrica pode ocasionar sérias disfunções nas plantas, sejam elas pelo decréscimo de turgor das células, que é essencial nos processos metabólicos, ou por causar alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, refletindo sobre o transporte e absorção de água e nutrientes (LEHNINGER, 2006; TAIZ & ZEIGER, 2009).

Como descrito por Palharini (2016), o déficit hídrico imposto a partir do estágio de desenvolvimento R1 (início do florescimento, FEHR & CAVINESS, 1977) tem acentuado a abertura de vagens imaturas em alguns genótipos de soja. Este fato pode levar à perda de produtividade devido à queda de grãos no solo, além de favorecer a entrada de patógenos, fazendo com que a sanidade dos grãos em processo de maturação seja afetada.

Sabe-se que a ocorrência de abertura de vagens imaturas difere do padrão de deiscência comum, uma vez que este último tipo ocorre ao alcançar a maturação. Desta forma, não se pode concluir que as causas e bases genéticas são as mesmas para ambas características, existindo a necessidade de avaliar e aprimorar as metodologias existentes para o estudo desta abertura que ocorre em vagens imaturas. Várias abordagens podem ser utilizadas para um estudo mais aprofundado, como a verificação de interferências de fatores ambientais (principalmente o déficit hídrico), a morfoanatomia e composição química dos tecidos vegetais envolvidos na abertura de vagens imaturas, o comportamento e desempenho específico dos genótipos e de outras características que possam auxiliar neste estudo.

A avaliação de outros caracteres agronômicos, como o tamanho das vagens e dos grãos, o número de grãos e de vagens, dentre outros, podem indicar alguma correlação com a abertura de vagens imaturas e se tornar indicadores apropriados para este problema (KRISNAWATI & ADIE, 2017; ZHANG et al., 2018). A morfoanatomia dos tecidos da vagem também pode contribuir para a compreensão da formação de camadas de abscisão nos locais de ligação (suturas dorsal e ventral) das duas faces da vagem e das forças envolvidas no processo de abertura (TIWARI & BHATIA, 1995; CHRISTIANSEN et al., 2002; ZHANG et al., 2018).

Existem diversos relatos que identificam genes que controlam a deiscência de vagens por meio de mecanismos distintos (FUNATSUKI et al., 2014; DONG et al., 2014), além da identificação de loci de características quantitativas (QTL) associados por meio de estudos de mapeamento genético, que mostram a existência de uma complexa rede reguladora genética que controla a deiscência em soja (SoyBase, <https://soybase.org/>). Partindo deste ponto, abordagens envolvendo estudos genômicos, como o *Genome-Wide Association Studies* (GWAS), onde as variações genéticas existentes são examinadas em diferentes indivíduos para encontrar quais dessas variantes estão associadas ao fenótipo em particular (FUNATSUKI et al., 2012; GAO & ZHU, 2013; FUNATSUKI et al., 2014) podem trazer explicações mais detalhadas da abertura de vagens imaturas.

O conhecimento acerca da abertura de vagens imaturas e a identificação de estratégias de seleção é de grande importância para os programas de melhoramento de soja. A seleção de genótipos com a ausência da abertura de vagens imaturas quando submetidos a situações

adversas, como o deficit hídrico, trará uma segurança maior às empresas de melhoramento e aos produtores da cultura.

Diante do exposto, os objetivos do trabalho foram: avaliar fenotipicamente genótipos de soja sob influência do deficit hídrico e outros fatores ambientais (temperatura, umidade e substratos), quanto à abertura de vagens imaturas, e sua correlação com outros caracteres agronômicos; associar aspectos da composição química e anatomia dos tecidos da vagem de soja quando da ocorrência da sua abertura de forma imatura na presença e ausência de deficit hídrico; e identificar regiões genômicas relacionadas à abertura de vagens imaturas de genótipos de soja submetidos ao deficit hídrico, através de associação genômica ampla (GWAS).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALLESTER, P.; FERRÁNDIZ, C. Shattering fruits: variations on a dehiscent theme. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 35, p. 68-75, 2017. <<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.11.008>>
- CHRISTIANSEN, L. C.; DAL DEGAN, F.; ULVSKOV, P.; BORKHARDT, B. Examination of the dehiscence zone in soybean pods and isolation of a dehiscence-related endopolygalacturonase gene. **Plant, Cell & Environment**, v. 25, n. 4, p. 479-490, 2002. <<https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00839.x>>
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: Grãos – Safra 2020/21, 10º Levantamento**. Volume 8, Número 10, Julho 2021, Brasília, 110 p. <<https://www.conab.gov.br/>>
- DONG, Y.; YANG, X.; LIU, J.; WANG, B. H.; LIU, B. L.; WANG, Y. Z. Pod shattering resistance associated with domestication is mediated by a NAC gene in soybean. **Nature Communications**, v. 5, p. 1-11, 2014. <<https://doi.org/10.1038/ncomms4352>>
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tecnologias de produção de soja – região central do Brasil – 2007**. Londrina: Embrapa Soja, 2007.
- FAS USDA - Foreign Agricultural Service: United States Department of Agriculture. **Soybeans: World supply and distribution**. Julho, 2021. <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/compositeViz>>
- FEHR, W. R.; CAVINESS, C.E. **Stages on soybean development**. Ames: Iowa State University/Cooperative Extension Service, (Special Report, 80), p. 11, 1977.
- FUNATSUKI, H.; HAJIKA, M.; YAMADA, T.; SUZUKI, M.; HAGIHARA, S.; TANAKA, Y.; FUJITA, S.; ISHIMOTO, M.; FUJINO, K. Mapping and use of QTLs controlling pod dehiscence in soybean. **Breeding Science**, v. 61, p. 554-558, 2012. <<https://doi.org/10.1270/jsbbs.61.554>>
- FUNATSUKI, H.; SUZUKI, M.; HIROSE, A.; INABA, H.; YAMADA, T.; HAJIKA, M.; KOMATSU, K.; KATAYAMA, T.; SAYAMA, T.; ISHIMOTO, M.; FUJINO, K. Molecular basis of a shattering resistance boosting global dissemination of soybean. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 50, p. 17797-17802, 2014. <<https://doi.org/10.1073/pnas.1417282111>>
- GAO, M.; ZHU, H. Fine mapping of a major quantitative trait locus that regulates pod shattering in soybean. **Molecular Breeding**, v. 32, p. 485-491, 2013. <<https://doi.org/10.1007/s11032-013-9868-2>>
- GARCIA, A.; CALVO, É. S.; KIIHL, R. A. S.; HARADA, A.; HIROMOTO, D. M.; VIEIRA, L. G. E. Molecular mapping of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) resistance genes: discovery of a novel locus and alleles. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 117, n. 4, p. 545-553, 2008. <<https://doi.org/10.1007/s00122-008-0798-z>>
- KIIHL, R. A. S.; BAYS, I. A.; ALMEIDA, L. A. Soybean breeding for the Brazilian tropics. In: **Proceedings of a Symposium Tsukuba**, p. 141-143, 1983.

- KRISNAWATI, A.; ADIE, M. M. Identification of soybean genotypes for pod shattering resistance associated with agronomical and morphological characters. **Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education**, v. 9, n. 2, p. 193-200, 2017. <<https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v9i2.8716>>
- LEHNINGER, N. D. L. **Princípios de bioquímica**. 4ª Edição. São Paulo: Sarvier, 1202p., 2006.
- MASCARENHAS, H. A. A.; ESTEVES, J. A. F.; WUTKE, E. B.; RECO, P. C.; LEÃO, P. C. L. Deficiência e toxicidade visuais de nutrientes em soja. **Nucleus**, v. 10, n. 2, p. 281-306, 2013. <<https://doi.org/10.3738/1982.2278.974>>
- PALHARINI, W. G. **Influência do estresse hídrico sobre caracteres agrônômicos, fisiológicos e abertura de vagens imaturas em soja**. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 44 p., 2016. <<https://locus.ufv.br/handle/123456789/9284>>
- PATHARKAR, O. R.; WALKER, J. C. Connections between abscission, dehiscence, pathogen defense, drought tolerance, and senescence. **Plant Science**, v. 284, p. 25-29, 2019. <<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.03.016>>
- RAMALINGAM, J.; ALAGARASAN, G.; SAVITHA, P.; LYDIA, K.; POTHIRAJ, G.; VIJAYAKUMAR, E.; SUDHAGAR, R.; SINGH, A.; VEDNA, K.; VANNIARAJAN, C. Improved host-plant resistance to phytophthora rot and powdery mildew in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). **Scientific Reports**, v. 10, p. 1-11, 2020. <<https://doi.org/10.1038/s41598-020-70702-x>>
- SANTOS, E. L.; CECCATTO, S. E. K. Abertura prematura de vagens e rendimento de grãos de soja em diferentes épocas de semeadura. **Acta Iguazu**, v. 7, n. 4, p. 11-23, 2018.
- SILVENTE, S.; ANATOLY, P. S.; LARA, M. Metabolite adjustments in drought tolerant and sensitive soybean genotypes in response to water stress. **PLoS One**, v. 7, n. 6, p. 1-11, 2012. <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038554>>
- SONG, L.; PRINCE, S.; VALLIYODAN, B.; JOSHI, T.; SANTOS, J. V. M.; WANG, J.; LIN, L.; WAN, J.; WANG, Y.; XU, D.; NGUYEN, H. T. Genome-wide transcriptome analysis of soybean primary root under varying water-deficit conditions. **BMC Genomics**, v. 17, n. 57, 2016. <<https://doi.org/10.1186/s12864-016-2378-y>>
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4ª Edição, Artmed, Porto Alegre, 848 p., 2009.
- TIWARI S.; BHATIA, V. S. Characters of pod anatomy associated with resistance to pod-shattering in soybean. **Annals of Botany**, v. 76, p. 483-485, 1995. <<https://doi.org/10.1006/anbo.1995.1123>>
- TRAN, L. S. P.; MOCHIDA, K. Functional genomics of soybean for improvement of productivity in adverse conditions. **Functional & Integrative Genomics**, v. 10, p. 447-462, 2010. <<https://doi.org/10.1007/s10142-010-0178-z>>
- YANG, W.; FENG, H.; ZHANG, X.; ZHANG, J.; DOONAN, J. H.; BATCHELOR, W. D.; XIONG, L.; YAN, J. Crop phenomics and high-throughput phenotyping: Past decades, current challenges, and future perspectives. **Molecular Plant**, v. 13, n. 2, p. 187-214, 2020. <<https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.01.008>>

ZHANG, Q.; TU, B.; LIU, C.; LIU, X. Pod anatomy, morphology and dehiscing forces in pod dehiscence of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. **Flora**, v. 248, p. 48-53, 2018. <<https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.08.014>>

ZHANG, J.; SINGH, A. K. Genetic Control and Geo-Climate Adaptation of Pod Dehiscence Provide Novel Insights into Soybean Domestication. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, v. 10, n. 2, p. 545-554, 2020. <<https://doi.org/10.1534/g3.119.400876>>

CAPÍTULO 01 - ABERTURA DE VAGENS IMATURAS DE GENÓTIPOS DE SOJA SOB DEFICIT HÍDRICO

RESUMO

A indeiscência de vagens na planta de soja é o resultado de muitas pesquisas e configura um passo fundamental na domesticação da cultura. Contudo, outra forma de abertura de vagens tem sido identificada em alguns genótipos. Esta abertura que ocorre em vagens imaturas, no estágio de enchimento dos grãos, ainda é uma característica que carece de explicação científica. Dois experimentos foram desenvolvidos com o objetivo de verificar a influência do deficit hídrico e da época de cultivo na manifestação dessa característica. Paralelamente, foi possível verificar a existência de correlação entre a abertura de vagens imaturas com outros caracteres agronômicos. Os experimentos foram realizados em casa de vegetação em duas épocas. As plantas foram cultivadas em delineamento com três blocos casualizados, utilizando 99 genótipos de soja e dois tratamentos de irrigação, chamados de tratamento controle (oferta de água próximo à capacidade de campo, -33 kPa) e tratamento estresse (oferta de água próximo ao ponto de murcha permanente, -900 kPa). Os tratamentos de irrigação foram conduzidos por meio do método de pesagem dos vasos de plantas. O deficit hídrico no tratamento estresse foi imposto do estágio R3 ao R6 e no tratamento controle a irrigação adequada foi mantida durante todo o ciclo da cultura. Nos dois experimentos, houve influência do deficit hídrico na porcentagem de vagens imaturas abertas em alguns genótipos de soja avaliados. De forma que, o tratamento estresse favoreceu a expressão da característica. Contudo, os genótipos que apresentaram abertura de vagens imaturas não foram os mesmos nas duas épocas de cultivo, possivelmente devido às condições de temperatura e umidade do ambiente. Poucos genótipos apresentaram abertura em algumas vagens imaturas do tratamento controle. Esta característica, apresentou correlações significativas, porém de magnitude baixa, com os caracteres agronômicos comprimento e largura da vagem, volume dos grãos 2 e 3, e volume da cavidade central no experimento 1, e número de grãos, massa de 100 grãos, número médio de grãos por vagem, porcentagem de vagens chochas e largura de vagem no experimento 2. Fatores climáticos como temperatura e umidade, podem ter influenciado no processo de indução do estresse hídrico.

Palavras-chave: *Glycine max.* Irrigação. Escassez hídrica. Estresse térmico. Correlação.

1 INTRODUÇÃO

A deiscência das vagens é um processo natural de dispersão de sementes apresentado por plantas silvestres de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] quando atingem a maturidade. Este processo se desenvolve em decorrência da redução da força de ligação das paredes da vagem à medida que ocorrem mudanças no turgor e ressecamento dos tecidos, além da geração de forças nas zonas de deiscência (FUNATSUKI et al., 2014; PATHARKAR & WALKER, 2019). Na natureza, esse mecanismo é um importante e eficaz meio para a propagação de plantas. Porém, em sistemas produtivos, a deiscência resulta em redução da produção e restringe a janela temporal para a colheita. Em trabalho desenvolvido por Bhor et al. (2014) foram relatadas perdas de produtividade que variaram de 50 a 100%, atribuídas à deiscência das vagens de cultivares de soja suscetíveis cultivadas em condições severas de clima seco. Desta forma, durante o processo de domesticação da cultura da soja, a resistência à deiscência foi preferencialmente selecionada (FUNATSUKI et al., 2006, 2014; DONG et al., 2014).

Além do processo de deiscência que ocorre na maturação, tem-se verificado um novo padrão de abertura das vagens, ocorrendo quando ainda estão imaturas, nas fases finais de enchimento de grãos - estádios R5 e R6 (conforme escala proposta por FEHR & CAVINESS, 1977). Pouco se conhece acerca das causas e/ou agravantes da abertura de vagens imaturas em soja, como por exemplo se são similares às que levam à ocorrência da deiscência. Palharini (2016) associou a característica à ocorrência do déficit hídrico, concluindo que o estresse imposto a partir do estágio de desenvolvimento R1 tem acentuado a abertura de vagens imaturas de algumas cultivares de soja. Nesta perspectiva, Zhang et al. (2018) mencionam que além de uma consequência do enfraquecimento das zonas de deiscência dorsal e ventral, a abertura da vagem ocorre também pela tensão nas células da camada interna do esclerênquima como resultado da desidratação. Assim como Christiansen et al. (2002) já haviam mencionado, o problema de abertura das vagens é agravado por condições climáticas de altas temperaturas e baixas umidades.

A expressão desta característica tem se mostrado atualmente como um desafio aos programas de melhoramento genético para o desenvolvimento de novas cultivares de soja. Por vezes, pesquisadores se dedicam ao desenvolvimento de cultivares altamente produtivas e que exibem boa resistência às doenças e pragas, contudo, ao final do processo, algumas linhagens manifestam a abertura de vagens imaturas quando são testadas, restando, portanto, o descarte do material genético.

A abertura de vagens imaturas é um caráter complexo e ainda pouco estudado. Assim, o estudo dos fatores ambientais e outros caracteres agrônômicos que possam se correlacionar a ela, pode contribuir para a identificação de genótipos suscetíveis e serem utilizados em processos de seleção indireta. O estudo de correlações é importante para o entendimento das variações existentes, avaliando o grau de relacionamento linear entre duas variáveis. Isto permite a avaliação do material genético para um conjunto de caracteres, simultaneamente, informando como um caractere pode ocasionar alterações em outros (CRUZ et al., 2012).

Diante disso, objetivou-se neste trabalho avaliar fenotipicamente a abertura de vagens imaturas de genótipos de soja cultivados em duas épocas distintas e submetidos ao déficit hídrico. Paralelamente, determinar a correlação da abertura de vagens imaturas com outros caracteres agrônômicos.

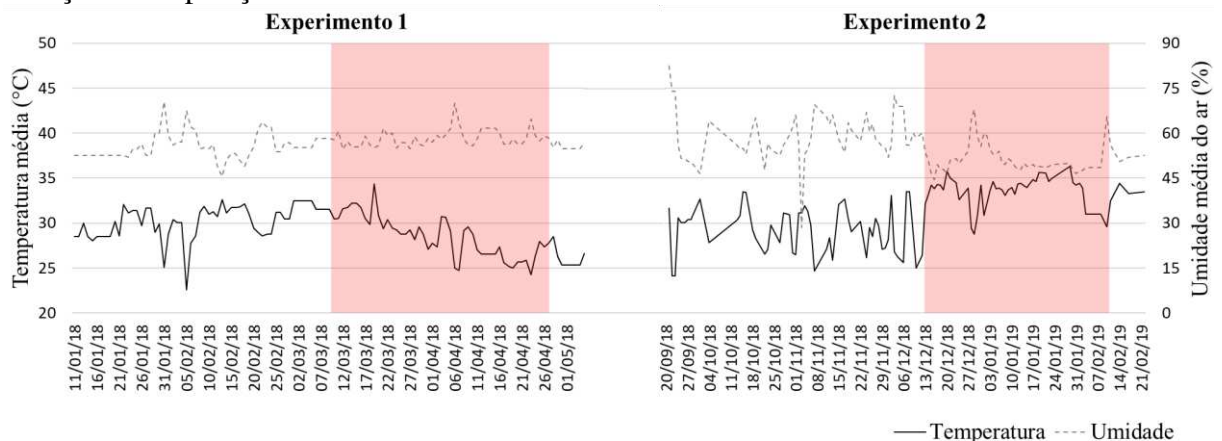
2 MATERIAL E MÉTODOS

Condução dos experimentos e Épocas de cultivo

Foram conduzidos dois experimentos em casa de vegetação na cidade de Viçosa - Minas Gerais/Brasil, latitude 20°45'17" Sul, longitude 42°52'57" Oeste e 649 metros de altitude. O experimento 1 foi realizado no período de janeiro a maio de 2018 e o experimento 2 de setembro de 2018 a fevereiro de 2019.

As temperaturas e umidades mínimas e máximas, dentro da casa de vegetação nos períodos de realização dos experimentos, foram monitoradas com o auxílio de termo-higrômetro digital (modelo K29-5070H - Kasvi) e as médias estão apresentadas na Figura 1.

Figura 1 - Temperaturas e umidades médias dentro da casa de vegetação nos períodos de condução dos experimentos 1 e 2. A área sombreada na cor vermelha indica o período de duração da imposição do déficit hídrico no tratamento estresse.



O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados em esquema fatorial 99 x 2, sendo 99 genótipos de soja e 2 regimes de irrigação, avaliados em 3 blocos. Os regimes de irrigação foram chamados neste trabalho de “tratamento estresse” (com deficit hídrico) e “tratamento controle” (sem deficit hídrico).

Os genótipos avaliados são oriundos de diferentes empresas de melhoramento genético de soja e possuem uma ampla variação quanto às suas características. Estes genótipos apresentam diferentes eventos transgênicos (convencional, Roundup Ready e Intacta RR2BT), tipos de crescimento (determinado, semi-determinado e indeterminado), grupos de maturação (do grupo cinco ao nove), dentre outras características morfoagronômicas (Tabela Suplementar 1).

A parcela experimental foi composta de uma planta cultivada em um vaso com volume de sete litros, contendo substrato preparado com uma mistura de solo, areia e esterco animal, na proporção de 3:1:2. Nos dois experimentos o substrato foi classificado com textura franco-argilo-arenosa, e sua correção mineral foi realizada com base em análise química (Tabela 1), utilizando valores de extração da cultura para produção de 3000 kg ha⁻¹ (CÂMARA, 2015). Os demais tratos culturais foram realizados conforme o recomendado para a cultura da soja (SEDIYAMA et al., 2015).

Tabela 1 - Análise física e química dos substratos utilizados nos experimentos 1 e 2.

Componentes	Experimento 1	Experimento 2
Argila	31%	32%
Silte	13%	14%
Areia	56%	54%
Textura	Franco-argilo-arenosa	Franco-argilo-arenosa
pH (em H ₂ O)	6,3	5,6
Fósforo (P)	64,3 mg dm ⁻³	31,9 mg dm ⁻³
Potássio (K)	800 mg dm ⁻³	600 mg dm ⁻³
Cálcio (Ca ²⁺)	2,9 cmol _c dm ⁻³	4,2 cmol _c dm ⁻³
Magnésio (Mg ²⁺)	2,3 cmol _c dm ⁻³	2,6 cmol _c dm ⁻³
Alumínio (Al ³⁺)	0,0 cmol _c dm ⁻³	0,0 cmol _c dm ⁻³
Acidez Potencial (H + Al)	1,49 cmol _c dm ⁻³	3,63 cmol _c dm ⁻³
Soma de Bases Trocáveis	7,3 cmol _c dm ⁻³	8,3 cmol _c dm ⁻³
Capacidade de Troca Catiônica Efetiva	7,3 cmol _c dm ⁻³	8,3 cmol _c dm ⁻³
Capacidade de Troca Catiônica em pH 7,0	8,7 cmol _c dm ⁻³	12 cmol _c dm ⁻³
Índice de Saturação de Bases	83%	70%
Matéria Orgânica	4,68 dag Kg ⁻¹	4,12 dag Kg ⁻¹

Regimes de irrigação

A metodologia utilizada para definir os regimes de irrigação e impor o deficit hídrico às plantas de soja em casa de vegetação foi adaptada pelo Programa de Melhoramento da Soja da Universidade Federal de Viçosa, como descrito por Dantas (2018).

No tratamento controle o solo foi mantido próximo a capacidade de campo (CC), durante todo o ciclo da cultura. De acordo com Bernardo et al. (2019) solos argilosos se encontram em CC em um potencial hídrico de -33 Kilopascal (kPa). Já no tratamento estresse, o potencial hídrico utilizado foi de -900 kPa, entre os estádios reprodutivos R3 (início da formação de vagens) e R6 (enchimento de grãos). Os estádios de desenvolvimento da cultura da soja estão descritos com base na escala proposta por Fehr e Caviness (1977). Nos estádios vegetativos e nos demais estádios reprodutivos (R1 - início do florescimento, R2 - florescimento completo e R7 - início da maturação), as plantas correspondentes ao tratamento estresse foram mantidas sob irrigação adequada, ou seja, elevando a umidade do solo até a CC.

Para alcançar a umidade ideal do solo nos tratamentos controle e estresse (com tensões de -33 e -900 kPa, respectivamente), foi obtida a curva de retenção de água para os substratos utilizados por meio da câmara de pressão de Richards (RICHARDS, 1965). No experimento 1,

a curva de retenção foi feita utilizando as tensões de -6, -10, -30, -50, -100, -200, -500 e -1500 kPa. No experimento 2, a curva de retenção foi obtida utilizando as tensões de -6, -10, -30, -40, -80, -100, -500 e -1500 kPa. Os dados obtidos com as curvas de retenção foram ajustados pelo modelo proposto por van Genuchten (1980) com o auxílio do software *Soil Water Retention Curves* (SWRC, versão 3.00 beta), desenvolvido por Dourado-Neto et al. (2001), conforme a equação:

$$\theta = \theta_r + \frac{\theta_s - \theta_r}{[1 + (\alpha\Psi)^n]^m}$$

no qual: θ_s é o conteúdo volumétrico saturado da água no solo ($\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$); θ_r é o conteúdo volumétrico residual da água no solo ($\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$); α é o fator de ajuste (kPa^{-1}); Ψ é o potencial hídrico ($-\text{kPa}$); n é um fator de ajuste (adimensional); e m é um fator de ajuste (adimensional) dado por $m = 1 - (1/n)$, conforme proposto por Mualem (1976). Os valores dos parâmetros θ_s , θ_r , α , m e n foram 0,2651, 0,0419, 0,1667, 0,1457 e 1,1705, respectivamente, para o experimento 1, e 0,2086, 0,1308, 0,0317, 0,6692 e 3,0232, respectivamente, para o experimento 2.

Em posse das equações, foi possível calcular as umidades (θ) requeridas para os tratamentos controle e estresse, que foram 20,24% e 12,98% respectivamente para o experimento 1, e 17,74% e 13,09% respectivamente para o experimento 2. A umidade do solo em cada tratamento foi mantida por meio de pesagens diárias dos vasos, com a finalidade de calcular a lâmina de água. Para isso, vasos selecionados por amostragem dentro de cada bloco, foram pesados com o auxílio de balança digital (modelo Prix 3 Fit 15kg - Toledo do Brasil).

O potencial hídrico foliar foi monitorado durante a condução dos experimentos, para garantir a imposição do deficit hídrico. As avaliações ocorreram no período da antemã, em folhas completamente expandidas do segundo trifólio, com auxílio de bomba de pressão do tipo Scholander (SCHOLANDER et al., 1965).

Avaliação da qualidade dos substratos

A qualidade física dos substratos utilizados foi monitorada por meio dos parâmetros de ajuste (θ_s , θ_r , α , m e n) gerados pelo modelo proposto por van Genuchten (1980) ao se ajustar a curva de retenção de água nos substratos.

Conforme van Genuchten (1980), θ_s define a assíntota superior da curva de retenção de água, correspondendo à umidade do solo na saturação, portanto, no potencial hídrico igual a zero. O θ_r , por sua vez, define a assíntota inferior da curva, representando o conteúdo residual de água no substrato. O parâmetro α está associado ao inverso do valor de potencial mátrico em

que ocorre a entrada de ar no maior poro do solo. Os parâmetros m e n são fatores de ajuste relacionados ao formato da curva. De forma mais específica, o n é um índice da distribuição dos poros por tamanho, portanto relacionado com a inclinação da curva característica de água no solo.

Em posse destes parâmetros, calculou-se o índice S , proposto por Dexter (2004) por meio da equação:

$$S = -n(\theta_s - \theta_r)\left[1 + \frac{1}{m}\right]^{-(1+m)}$$

Este índice expressa a declividade da curva de retenção de água no solo em seu ponto de inflexão e pode ser usado como indicador de qualidade física dos solos. O valor do índice S possibilita a classificação do solo quanto à sua qualidade estrutural. Assim, o autor recomenda que o valor do módulo de S igual ou superior a 0,035 indica uma boa qualidade do solo. Valores de S menores que 0,020 já representam condições físicas de solo muito pobres e com alta restrição ao crescimento das raízes das plantas.

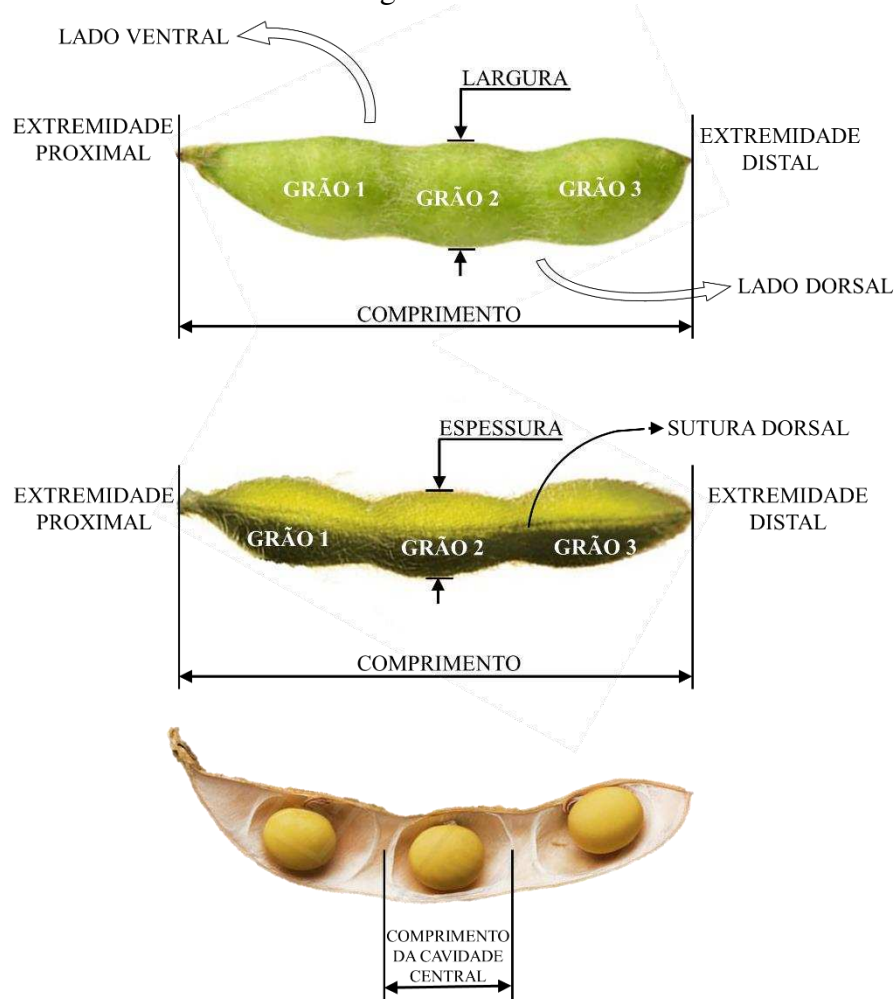
Avaliação dos caracteres agronômicos

No estágio de desenvolvimento R6 (vagens verdes com grãos cheios), foi quantificado o número de vagens imaturas abertas por planta (NVA).

Após a colheita, no estágio R8 (maturação plena), as plantas/parcelas foram avaliadas quanto ao número de dias do ciclo total (CIC, da germinação à colheita); número de nós na haste principal (NOS); número de hastes laterais (NHL); número de vagens totais (NV); número de grãos (NG); massa de 100 grãos (M100); número médio de grãos por vagem (NMGV); porcentagem de vagens chochas (PVCH); e dimensões das vagens e dos grãos. A porcentagem de vagens imaturas abertas por planta (PVA) foi calculada com base no NVA e no NV.

Para a avaliação da dimensão das vagens e dos grãos, foram separadas três vagens de três grãos de cada parcela experimental. Em seguida, com o auxílio de um paquímetro digital (modelo 316119 - MTX), foram mensuradas o comprimento, largura e espessura das três vagens (COMV, LARV e ESPV, respectivamente), sendo utilizado o valor médio em milímetros (mm). As medidas foram feitas conforme esquema apresentado na Figura 2.

Figura 2 - Parâmetros de dimensão de vagem avaliados.



Destas vagens, foram medidos o comprimento, largura e espessura dos três grãos, obedecendo a ordem do proximal para o distal (Figura 2) e calculados os volumes dos três grãos (VG1, VG2 e VG3) por meio da equação de volume de elipsoide:

$$V = \frac{\pi * comprimento * largura * espessura}{6}$$

Outra variável avaliada na vagem foi o volume da cavidade central da vagem, aquela na qual se aloca o grão do meio, considerado aqui como o grão número dois (Figura 2). O volume da cavidade central (VCC) também foi calculado com base na equação de volume de elipsoide:

$$VCC = \frac{\pi * comprimento da cavidade central * LARV * ESPV}{6}$$

Como informação complementar, nas vagens de três grãos avaliadas anteriormente, anotou-se a posição na qual houve a abertura de forma imatura. Ou seja, se a abertura ocorreu na sutura da vagem sob o grão 1, 2 ou 3.

Análise estatística

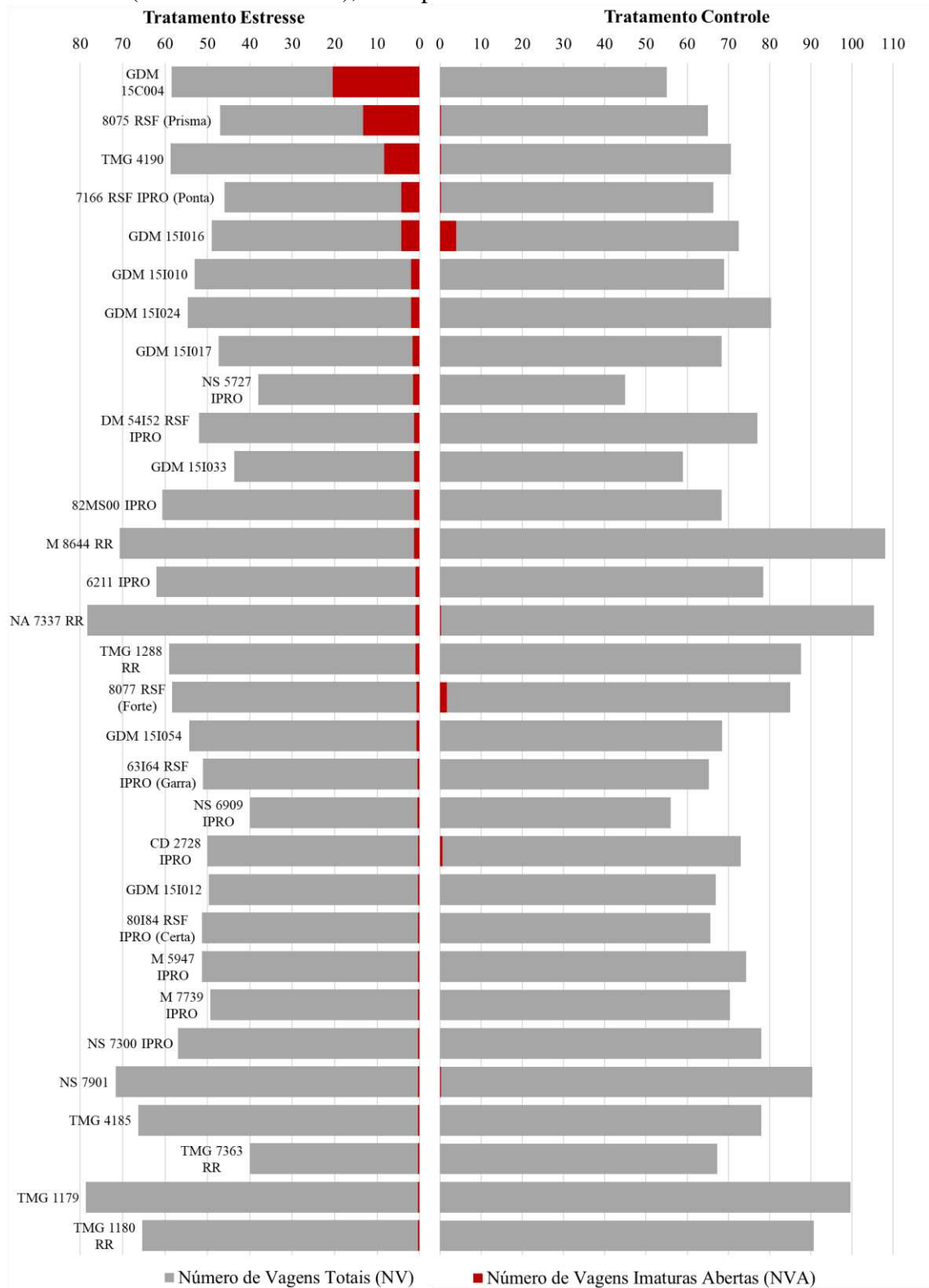
O número de vagens imaturas abertas (NVA) foi analisado de forma descritiva, dentro dos tratamentos de irrigação conduzidos. Os caracteres agronômicos avaliados para o tratamento de estresse hídrico foram correlacionados com a PVA, por meio de análise de correlação de Pearson, utilizando-se o pacote “corrplot” no software estatístico RStudio® (version 1.3.959, disponível em <http://www.rstudio.com/>). Os demais dados, como as médias das variáveis, foram plotados em gráficos e tabelas com o uso do Excel®.

3 RESULTADOS

Os dois tratamentos de irrigação testados exibiram fenótipos altamente contrastantes para a abertura de vagens imaturas, considerando alguns genótipos. De forma que, no tratamento estresse o número de vagens imaturas abertas foi maior em comparação com o tratamento controle, nos dois experimentos conduzidos. Os dados observados de número de vagens totais (NV) e quantas destas vagens apresentaram abertura de forma imatura (NVA) nos tratamentos estresse e controle, estão apresentados nas Figuras 3 (experimento 1) e 4 (experimento 2).

No experimento 1, 31 genótipos do total de 99 avaliados neste trabalho apresentaram abertura de vagens imaturas e foram representados na Figura 3, os demais 68 genótipos foram omitidos. Embora o tratamento estresse tenha apresentado maiores proporções de NVA, alguns genótipos no tratamento controle também expressaram essa característica, mesmo que em poucas vagens. Com destaque para o genótipo GDM 15I016, com 8,8% das vagens abertas no tratamento estresse e 5,5% das vagens abertas no tratamento controle; e para o genótipo 8077 RSF (Forte), com 1,2% e 2% das suas vagens imaturas abertas nos tratamentos estresse e controle, respectivamente.

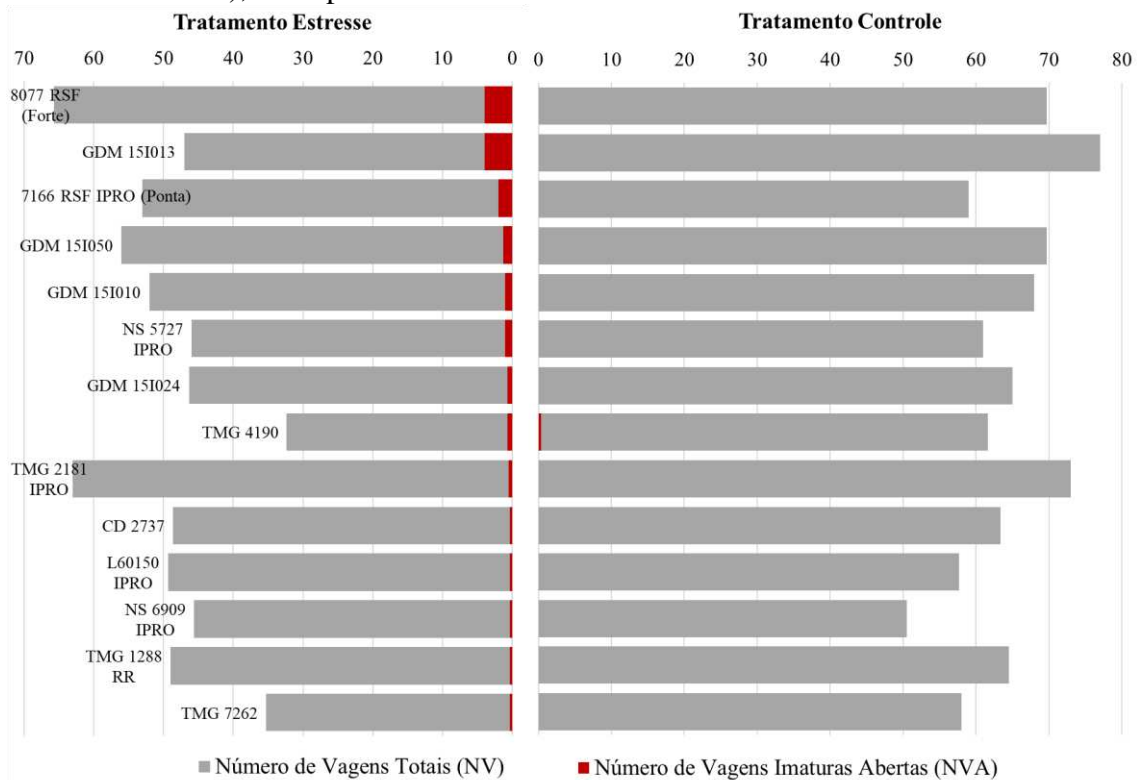
Figura 3 - Número de vagens totais (NV) e número de vagens imaturas abertas (NVA) apresentados pelos genótipos de soja submetidos ao deficit hídrico (tratamento estresse) e sem deficit hídrico (tratamento controle), no experimento 1.



No experimento 2, apenas 14 genótipos de soja avaliados apresentaram abertura imatura das vagens, no tratamento estresse (Figura 4). Um número consideravelmente menor em relação

ao primeiro experimento. Além disso, os genótipos no experimento 2, apresentaram uma quantidade menor de vagens abertas, uma média de 2,4% do número total de vagens. No experimento 1, em média 4,1% das vagens imaturas se abriram.

Figura 4 - Número de vagens totais (NV) e número de vagens imaturas abertas (NVA) obtidas pelos genótipos de soja submetidos ao deficit hídrico (tratamento estresse) e sem deficit hídrico (tratamento controle), no experimento 2.



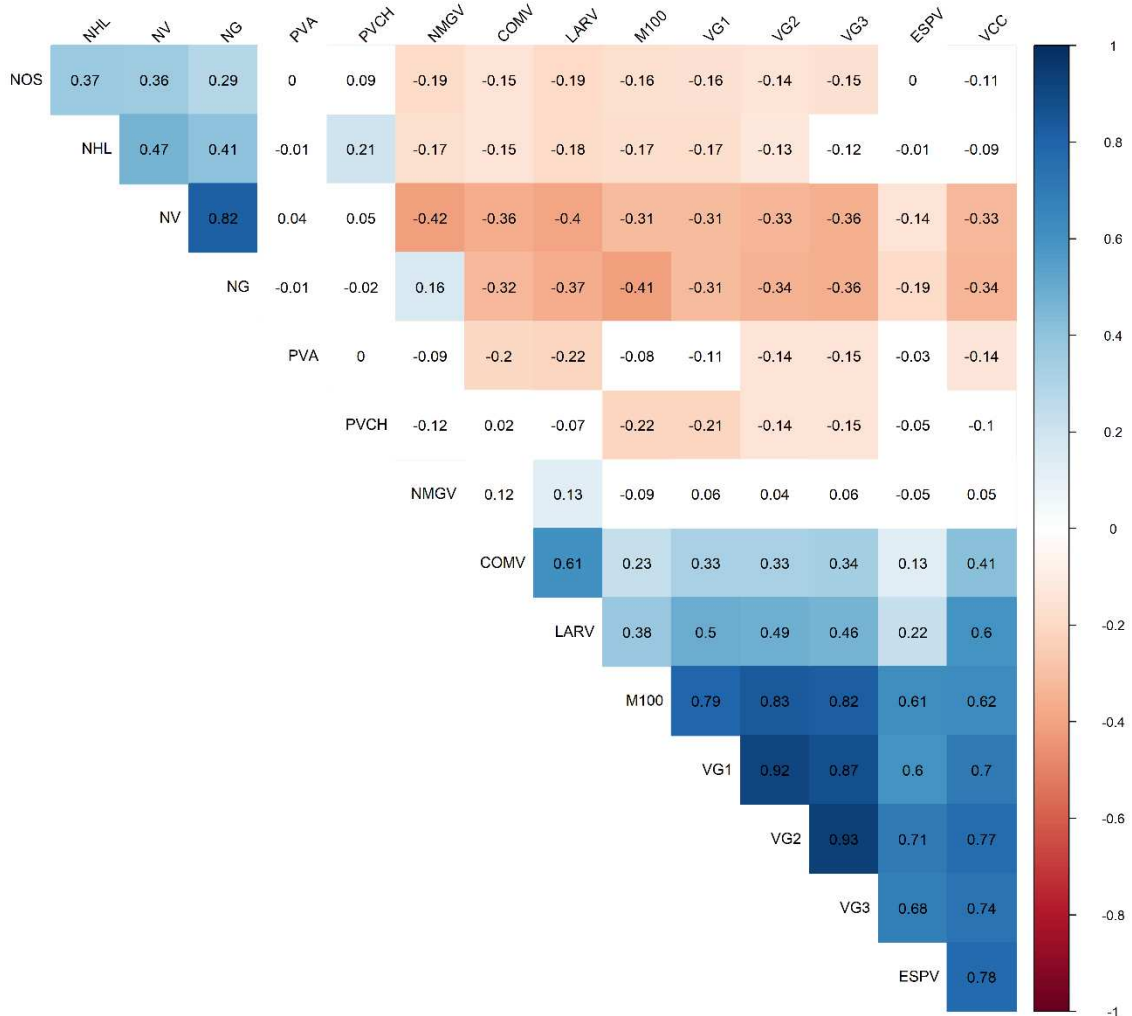
Os genótipos que abriram vagens no experimento 1 não coincidiram completamente com os genótipos que abriram vagens no experimento 2. Os genótipos 8077 RSF (Forte), 7166 RSF Ipro (Ponta), GDM 15I010, NS 5727, GDM 15I024, TMG 4190 e TMG 1288 RR foram os materiais que apresentaram vagens imaturas abertas nos dois experimentos.

Dentre os genótipos que abriram vagens, encontram-se materiais de diversos grupos de maturidade, tipos de crescimento e eventos transgênicos. Contudo, a maioria dos genótipos possuíam tipo de crescimento indeterminado, equivalendo a 38,7% e 42,9% do total de genótipos que abriram vagens no experimento 1 e 2, respectivamente.

As médias obtidas para os caracteres agrônômicos avaliados, nos dois tratamentos de irrigação e épocas de cultivo, estão expostos na Tabela Suplementar 2. Os coeficientes da análise de correlação entre estes caracteres avaliados para o experimento 1 estão apresentados na Figura 5 e para o experimento 2, na Figura 6. Em estudos iniciais de um caractere, como a

porcentagem de vagens imaturas abertas (PVA) na cultura da soja, é comum que se avalie a sua correlação com outros caracteres agronômicos. Para isso, foram utilizados os dados do tratamento estresse, porque apresentaram maior variabilidade fenotípica.

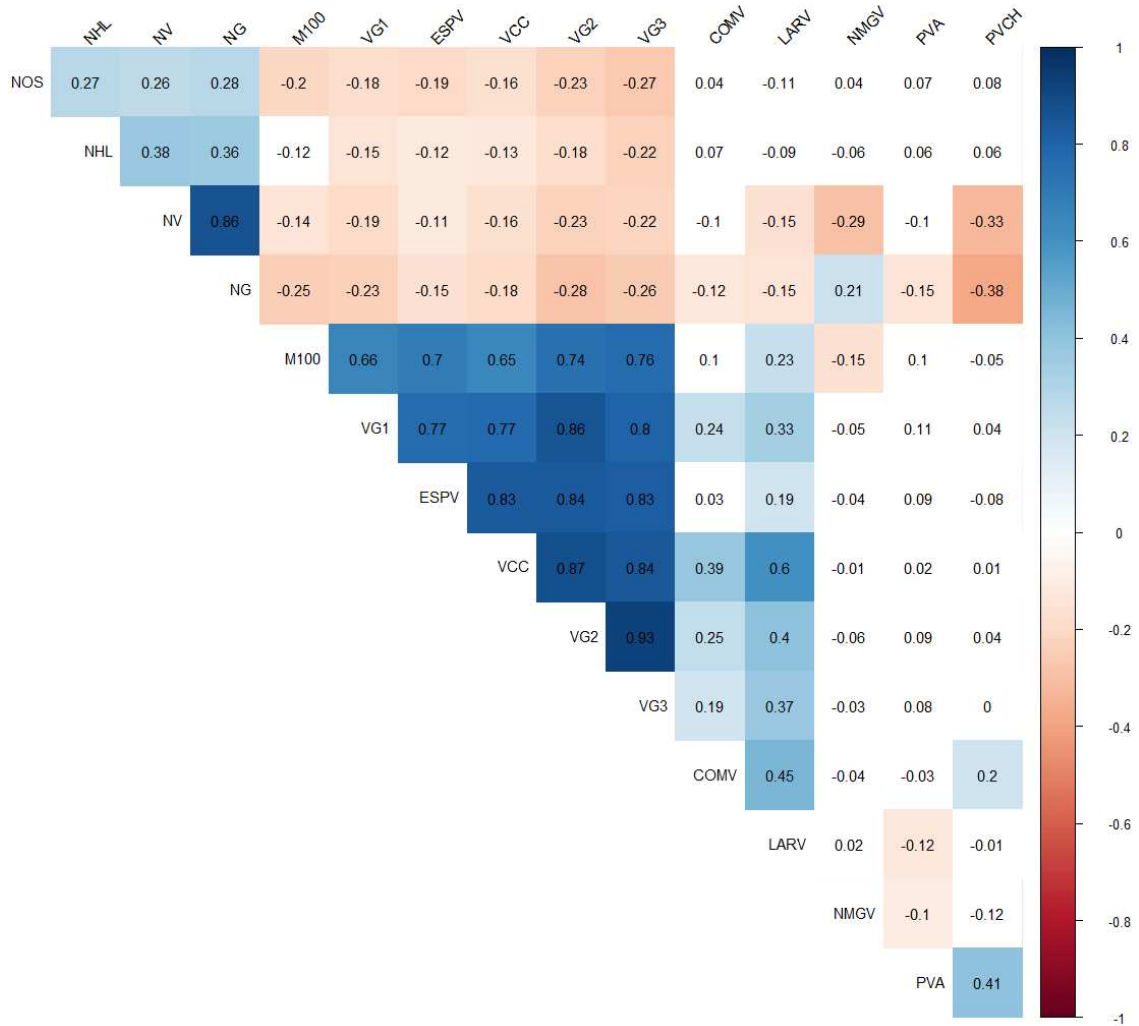
Figura 5 - Coeficientes da análise de correlação de Pearson entre os caracteres agronômicos avaliados para o experimento 1 utilizando dados do tratamento estresse.



Quadros com preenchimento colorido indicam correlações significativas (p -valor $< 0,05$), pelo teste t .

PVA: porcentagem de vagens imaturas abertas; NOS: número de nós na haste principal; NHL: número de hastas laterais; NV: número de vagens totais; NG: número de grãos totais; M100: massa de 100 grãos; NMGV: número médio de grãos por vagem; PVCH: porcentagem de vagens chochas; COMV: comprimento da vagem; LARV: largura da vagem; ESPV: espessura da vagem; VG1, VG2 e VG3: volumes dos grãos 1, 2 e 3, respectivamente; VCC: volume da cavidade central.

Figura 6 - Coeficientes da análise de correlação de Pearson entre os caracteres agrônômicos avaliados para o experimento 2 utilizando dados do tratamento estresse.



Quadros com preenchimento colorido indicam correlações significativas (p -valor $< 0,05$), pelo teste t.

PVA: porcentagem de vagens imaturas abertas; NOS: número de nós na haste principal; NHL: número de hastas laterais; NV: número de vagens totais; NG: número de grãos totais; M100: massa de 100 grãos; NMGV: número médio de grãos por vagem; PVCH: porcentagem de vagens chochas; COMV: comprimento da vagem; LARV: largura da vagem; ESPV: espessura da vagem; VG1, VG2 e VG3: volumes dos grãos 1, 2 e 3, respectivamente; VCC: volume da cavidade central.

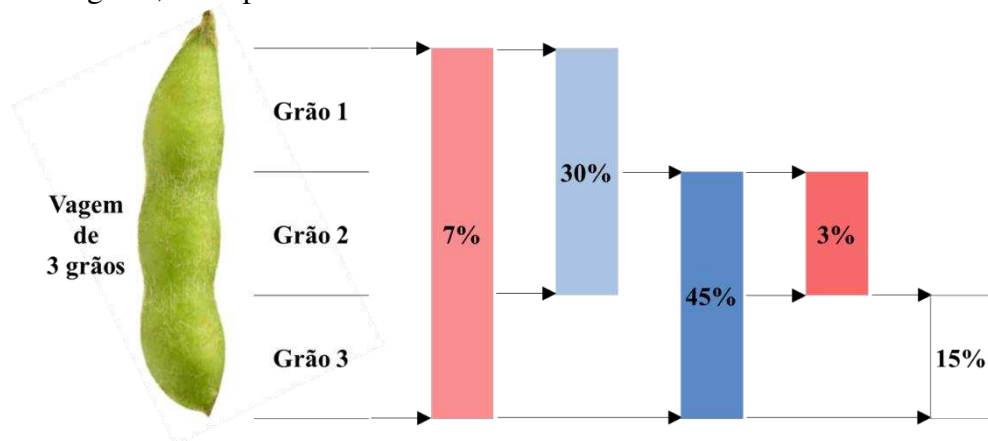
Encontramos uma relação linear negativa e significativa da PVA com as variáveis COMV, LARV, VG2, VG3 e VCC, no experimento 1 (Figura 5). Assim, com o aumento da PVA verificamos uma diminuição nos valores dessas variáveis relacionadas às dimensões das vagens e dos grãos. Após a ocorrência da abertura das vagens, nota-se uma diminuição dos volumes dos grãos 2 e 3 ao final do processo de maturação, provavelmente devido à perda de água destes grãos para o ambiente, adicionado à entrada e desenvolvimento de patógenos, como ilustrado na Figura 7. Consequentemente, a diminuição do volume dos grãos neste caso, acarreta em um menor COMV e LARV.

Figura 7 - Diferença na qualidade das sementes do genótipo de soja GDM 15C004 que apresentaram abertura de vagens imaturas no tratamento estresse (imagens do lado esquerdo), em contraste com o tratamento controle (imagens do lado direito), no experimento 1.



A correlação negativa entre a PVA com o VG2 e VG3 pode ser explicada pelo fato de que 45% das vagens de 3 grãos que abriram imaturamente, apresentam essa abertura sob os grãos 2 e 3 (Figura 8), os quais, após a abertura são afetados pelos fatores bióticos e abióticos citados anteriormente, que reduziram os seus volumes. Outros 30% da abertura ocorrem sob os grãos 1 e 2; 15% ocorreram apenas sob o grão 3; 7% ocorreu em todo o comprimento da vagem, ou seja, sob os grãos 1, 2 e 3; e 3% da abertura ocorre sob o grão 2. Estas porcentagens se referem à ocorrência de abertura de vagens imaturas de 3 grãos, que foram avaliadas quanto aos seus volumes.

Figura 8 - Localização da abertura das vagens imaturas e suas porcentagens de ocorrência em vagens de três grãos, no experimento 1.



Para o experimento 2, as correlações lineares entre a PVA e as variáveis NG, NMGV e LARV foram negativas e significativas (Figura 6). Como já mencionado, a PVA é potencializada pela ocorrência do deficit hídrico, mesmo fator que notadamente causa a diminuição de componentes de produtividade, como o NG e o NMGV, na soja e em diversas outras culturas. Ademais, correlação significativa, porém, positiva, também foi encontrada entre a PVA e a variável PVCH.

As diferenças de PVA encontradas para os genótipos de soja avaliados entre os experimentos 1 e 2, podem ter ocorrido devido às diferenças de temperatura e umidade do ar e/ou devido às diferenças inerentes às características do solo, demonstradas nas curvas de retenção de água nos substratos usados nessas ocasiões. Estes dois fatores foram os únicos que não apresentaram uniformidade do primeiro experimento para o subsequente, e serão analisados como as possíveis causas.

Como apresentado na Figura 1, as temperaturas e umidades médias foram de 29,17°C e 57% e 31,14°C e 55% para os experimentos 1 e 2, respectivamente, não apresentando grandes discrepâncias. Contudo, durante a imposição do deficit hídrico que iniciou no estágio R3 perdurando até o estágio R6 de desenvolvimento da cultura, esses dados climáticos apresentaram diferenças consideráveis (período destacado em vermelho na Figura 1). De forma que no experimento 1, o período de deficit hídrico para as plantas ocorreu de 10 de março a 28 de abril de 2018, com temperatura média de 28,47°C e umidade de 70%. No experimento 2, o deficit hídrico foi imposto entre os dias 13 de dezembro de 2018 e 10 de fevereiro de 2019, com temperatura média de 33,56°C e 51% de umidade.

A temperatura e umidade mais amenas observadas no experimento 1, podem ter favorecido o desenvolvimento dos grãos que, mesmo com deficit hídrico, cresceram de forma

que a vagem não suportou o volume dos mesmos. Isso pode ser detectado na Tabela 2, que mostra a média de volume dos grãos entre os tratamentos de irrigação e entre os experimentos. No qual, para o tratamento estresse, os volumes são sempre maiores no experimento 1, mesmo para os genótipos que abriram vagens.

Isto não aconteceu no experimento 2, no qual as plantas estavam submetidas ao estresse por temperatura alta e umidade do ambiente baixa, além do estresse pelo deficit hídrico. Provavelmente, esta combinação de estresses afetaram o desenvolvimento das sementes, fazendo com que elas ficassem pequenas e não crescessem o suficiente para romper a vagem e, então, causar a abertura destas de forma imatura. Podemos identificar isso na Tabela 2, no qual, para o experimento 2 verificamos que o volume dos grãos foi menor no tratamento estresse em comparação com o tratamento controle, devido à combinação do deficit hídrico com a alta temperatura. Vale ressaltar que o tamanho das vagens obtidos nos dois experimentos foi semelhante (Tabela Suplementar 2), o que reforça a teoria de que o menor desenvolvimento dos grãos no experimento 2 seja a razão para a baixa ocorrência de abertura das vagens.

Tabela 2 - Volumes médios dos grãos 1, 2 e 3 (VG1, VG2 e VG3, respectivamente) para os tratamentos com deficit hídrico (tratamento estresse) e sem deficit hídrico (tratamento controle) nos experimentos 1 e 2.

Tratamentos Genótipos		VG1 (mm ³)		VG2 (mm ³)		VG3 (mm ³)	
		Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2
Tratamento Estresse	Todos os genótipos	111,81	93,15	123,93	111,68	123,85	112,51
	Genótipos que abriram vagem	104,92	95,91	116,25	111,63	115,60	112,58
	Genótipos que não abriram vagem	115,11	92,74	127,61	111,69	127,80	112,50
Tratamento Controle	Todos os genótipos	103,72	104,22	114,59	121,63	115,05	120,59

Exp = Experimentos.

No experimento 1, os genótipos cultivados sob tratamento estresse e que não abriram vagens foram os que apresentaram o maior volume dos três grãos avaliados em comparação com todos os outros tratamentos. Isto corrobora com a hipótese de que o estresse hídrico poderia favorecer o crescimento dos grãos, uma vez que menos grãos foram formados nestas condições. No caso do experimento 2, o menor número de grãos produzidos, reflexo da temperatura mais alta e baixa umidade do ambiente, em relação ao experimento 1 (Tabela Suplementar 2), favoreceu o aumento do volume dos grãos na condição controle.

Outro fator mencionado como possível explicação para as diferenças encontradas entre os dois experimentos, está relacionado ao tipo de substrato usado. As curvas de retenção de água dos substratos apresentam algumas diferenças que podem ter contribuído para dificultar a imposição do déficit hídrico no experimento 2 e, conseqüentemente, influenciado na expressão da abertura de vagens imaturas dos genótipos de soja estudados.

O substrato utilizado para crescimento das plantas no experimento 1 necessita de uma umidade em base seca (Ubs) de 12,98% para atingir um potencial hídrico de - 900 kPa e então estabelecer o déficit hídrico. E o tratamento controle, com -33 kPa, foi mantido com uma Ubs de 20,24%. Já no experimento 2, os tratamentos de estresse hídrico e controle foram obtidos com Ubs iguais a 13,08% e 17,74%, respectivamente, apresentando uma diferença entre o estado de déficit hídrico e a boa hidratação das plantas bem pequeno, necessitando de uma precisão maior na imposição e manejo do déficit hídrico nessas plantas.

Mesmo possuindo valores muito parecidos de argila, silte e areia (Tabela 1), os substratos utilizados nos dois experimentos diferiram em relação aos parâmetros obtidos por meio do modelo de van Genuchten (1980), sendo eles: Θ_s , Θ_r , α , m e n . Estes parâmetros foram utilizados no cálculo do índice S, que funciona como uma chave métrica da qualidade física dos solos e é determinado a partir da inclinação da curva de retenção de água no solo no ponto de inflexão. Dexter (2004) sugere que solos com boa qualidade estrutural possuem valor de S igual ou superior a 0,035. Assim, foram obtidos os valores de 0,0246 e 0,0511 para índices S dos experimentos 1 e 2, respectivamente. Isto classifica o substrato do experimento 2 com qualidade estrutural mais elevada, com boa distribuição dos poros, capacidade de infiltração de água, aeração, capacidade de enraizamento, dentre outros fatores, oferecendo oportunidades para o bom desenvolvimento das plantas.

4 DISCUSSÃO

A abertura de vagens imaturas ainda é uma característica pouco investigada e a sua ocorrência pode trazer diversos prejuízos à cultura da soja. A expressão desta característica pode ser causada ou amplificada por diversos fatores que ainda precisam ser elucidados. Neste trabalho, avaliamos a influência de três fatores: i) o manejo de irrigação, avaliando plantas bem irrigadas e sob déficit hídrico; ii) vários genótipos de soja com diferentes hábitos de crescimento, grupos de maturidade e eventos transgênicos; e iii) duas épocas de cultivo, apresentando variações na temperatura e umidade do ar. O desenvolvimento dos experimentos em casa de vegetação objetivou minimizar a influência de outros fatores externos. Desta forma,

todos os fatores observados como possíveis interferências foram listados e discutidos, para que o comportamento desta característica seja preliminarmente mapeado.

A princípio, é oportuno destacar que a escassez de literatura específica acerca da abertura de vagens imaturas, nos impeliu a discutir alguns processos baseados na deiscência, por ser um tipo de abertura de vagens já esclarecido. Embora não seja comprovado que são processos derivados dos mesmos fatores.

Neste trabalho, foi possível verificar que o deficit hídrico influenciou de forma notável a ocorrência da abertura de vagens imaturas de soja, principalmente no experimento 1. No processo de deiscência, a abertura das vagens após a maturação, está diretamente relacionada às diferenças de tensão desenvolvidas nas células da camada esclerenquimática interna em decorrência da desidratação (ESTORNELL et al., 2013; BALLESTER & FERRÁNDIZ, 2017; ZHANG et al., 2018). Diversos autores examinaram a relação entre a deiscência das vagens e a baixa umidade no solo e no ambiente, no qual constataram que este pode ser considerado o principal fator que controla a frequência de deiscência das vagens de soja (TSUCHIYA, 1987; ZHANG et al., 2018; ZHANG & SINGH, 2020).

Com a análise de correlação, verificamos que o aumento da PVA é acompanhado por uma diminuição nas médias das variáveis relacionadas às dimensões das vagens e dos grãos (COMV, LARV, VG2, VG3 e VCC) no experimento 1. Já no experimento 2, a PVA apresentou correlações negativas com as variáveis NG, NMGV e LARV; e correlação positiva com a variável PVCH, que são mais relacionadas às características de produtividade da planta.

Avaliando a abertura de vagens imaturas, Palharini (2016) associou a abertura às forças físicas exercidas por grãos grandes em vagens pequenas. O autor relatou que com a ocorrência de deficit hídrico houve uma redução no número e no tamanho das vagens, contudo, os grãos formados apresentaram tamanho maior, o qual exerceu uma força sobre as vagens, contribuindo para a sua abertura quando ainda estavam verdes/imaturas, em cultivares mais suscetíveis. O mesmo foi observado no experimento 1, quando submetidos ao deficit hídrico, os grãos desenvolvidos tiveram um tamanho maior, podendo esse fato ter contribuído para a abertura das vagens imaturas que estavam mal desenvolvidas.

O início do deficit hídrico ocorreu no estágio de desenvolvimento R3, quando as vagens ainda estavam em formação, favorecendo o abortamento de algumas vagens. O número médio de vagens nos tratamentos estresse e controle foram 53 e 72, respectivamente. Já o comprimento, largura e espessura das vagens foram, respectivamente, 43,54, 9,18 e 6,42 mm no tratamento estresse; e de 45,14, 9,45 e 6,12, respectivamente, para o tratamento controle. Note que, o comprimento e a largura das vagens foram menores sob restrição hídrica, já a

espessura da vagem foi maior, reforçando que houve aumento no volume dos grãos. De modo geral, a ocorrência do déficit hídrico nas plantas, dentre diversos efeitos, inibe o alongamento celular, reduz a taxa de divisão celular e a concentração de pigmentos fotossintéticos, limitando diretamente o potencial fotossintético e, conseqüentemente, a produção primária (FLEXAS et al., 2012; FAROOQ et al., 2012; BUEZO et al., 2019; XIONG et al., 2020). Gavili et al. (2019) verificaram que a baixa umidade do solo diminuiu significativamente o comprimento médio da vagem em até 11%, em comparação com as condições de controle.

Neste trabalho, quando as plantas foram submetidas ao déficit hídrico, os grãos apresentaram maiores volumes. Contudo, com a ocorrência do processo de abertura das vagens imaturas, esses grãos sofreram danos de origem biótica e abiótica de tal forma que, apresentaram volume reduzido ao final do ciclo de maturação. Em déficit hídrico imposto durante o desenvolvimento das vagens (estágios R3 a R5), Desclaux et al. (2000) concluíram que o número de vagens foi significativamente afetado. Contudo, segundo os autores, estas plantas produziram maior peso individual de sementes, com incremento de até 20% em comparação com plantas cultivadas em condições de boa irrigação. O bom desenvolvimento vegetativo das plantas antes de serem submetidas à restrição hídrica e o abortamento das vagens após o início do estresse, favoreceram o bom enchimento das sementes nas vagens restantes. Assim, o estresse hídrico com início no estágio R3, durante o desenvolvimento de vagens e grãos, favorece a integridade (peso e qualidade) das sementes em detrimento do seu número.

Neste mesmo trabalho, Desclaux et al. (2000) compararam a ocorrência da restrição hídrica em vários estágios de desenvolvimento, durante a fase vegetativa (V4 a R1), floração (R1 a R3), vagem em fase de alongamento (R3 a R5) e no enchimento de sementes (R5). Eles concluíram que o comprimento médio dos entrenós foi o fator mais sensível à seca durante as fases vegetativa e de floração; o número de vagens por unidade de matéria seca foi significativamente afetado pelo estresse durante o alongamento das vagens; o estresse durante o enchimento de grãos reduziu o número de grãos por vagem; enquanto o estresse tardio, após o estágio limite para abortamento de vagens e grãos, diminuiu o peso do grão. A imposição do déficit hídrico em plantas de soja a partir do estágio R5.3 acarretou em um decréscimo nas médias dos componentes de produtividade: número de sementes, massa de sementes e massa de 100 grãos (NASCIMENTO, 2020). Diferentemente do observado neste trabalho, no qual o déficit hídrico imposto na fase de desenvolvimento das vagens (em R3) não afetou a massa de 100 grãos, no experimento 1.

Presumivelmente, genótipos que possuem grãos mais volumosos podem estar mais propensos a passarem por este processo de abertura das vagens imaturas. Este fato nos coloca

diante de uma dicotomia, quando elegemos genótipos com estas características em programas de melhoramento genético, visando maior rendimento no cultivo. Vale ressaltar que, o tamanho da vagem também é uma característica importante para definir se, mesmo com um grão maior, ocorrerá a abertura de vagens imaturas.

Diversos fatores influenciam o grau de deiscência em vagens de soja, como as condições ambientais, estrutura anatômica da vagem, composição química da parede da vagem e genótipo (TIWARI & BHATIA, 1995; ZHANG & BOAHEN, 2010). No entanto, entre esses fatores, as características genótípicas desempenham um papel fundamental na expressão geral da deiscência (BHOR et al. 2014; KRISNAWATI & ADIE, 2017a). Os 99 genótipos analisados neste trabalho apresentaram comportamentos diferentes em relação à abertura de vagens imaturas quando submetidos à restrição hídrica. Poucos genótipos abriram vagens imaturas tanto no tratamento estresse quanto no tratamento controle, manifestando um fenótipo altamente suscetível. Já alguns genótipos abriram vagens imaturas somente sob condições de restrição hídrica, denotando que a ocorrência do estresse induziu a abertura de vagens imaturas em alguns genótipos, que provavelmente possuíam algum nível de suscetibilidade. Todavia, a maior parte dos genótipos avaliados não abriram vagens por efeito dos tratamentos.

Os caracteres agronômicos que se correlacionaram com a PVA no experimento 1 (COMV, LARV, VG2, VG3 e VCC), estão relacionados aos danos que a PVA causou nas vagens e nos grãos. No experimento 2, como a PVA foi expressa em menor magnitude, as variáveis correlacionadas (NG, NMGV, LARV e PVCH) foram mais relacionadas aos danos do estresse hídrico e térmico sofridos pela planta no decorrer do seu desenvolvimento. Krisnawati & Adie (2017b) correlacionaram a porcentagem de deiscência das vagens com o comprimento, largura e espessura da vagem e peso de 100 grãos e encontraram correlações de 0,415, 0,141, 0,115 e de 0,247, respectivamente. Em seguida, eles quantificaram a relação entre a deiscência e os caracteres da vagem por meio da análise de coeficiente de trilha, concluindo que os maiores efeitos diretos foram observados para o comprimento da vagem, sugerindo que esse caractere foi um importante contribuinte para a resistência à deiscência da vagem. Resultados semelhantes foram relatados por Bara et al. (2013), que também encontraram variação significativa entre os genótipos de soja no comprimento, largura e espessura da vagem e peso de 100 grãos. Nestes trabalhos mencionados, as características morfológicas e fisiológicas das vagens foram associadas à resistência a deiscência das vagens, indicando que esses caracteres podem ser usados como indicadores para a seleção de genótipos.

Outro aspecto identificado neste trabalho, foram os efeitos deletérios do deficit hídrico em conjunto com o estresse pelo calor sobre os componentes de produtividade. No experimento

2, de forma geral, os componentes de produtividade NV, NG, M100, VG1, VG2 e VG3 foram menores em relação ao experimento 1. Vários estudos mostram que temperaturas acima de 32°C reduzem a taxa de crescimento dos grãos e o seu período de enchimento na soja (GIBSON & MULLEN, 1996; ERGO et al., 2018). Ergo et al. (2018) quantificaram a produtividade de plantas de soja sob os efeitos do estresse térmico (calor) e observaram reduções significativas no rendimento (21%) e no número de grãos (25%) em comparação com tratamento controle. Quando os autores avaliaram o estresse térmico e o deficit hídrico concomitantemente, eles constataram porcentagens de reduções ainda maiores, sendo 41% no rendimento, 26% no número de grãos e 21% no peso dos grãos em comparação ao tratamento controle.

A combinação entre restrição hídrica e altas temperaturas promovem reações fisiológicas únicas nas plantas, como por exemplo na resposta estomática conflitante. As plantas sob estresse térmico tendem a abrir seus estômatos para resfriar suas folhas por meio da transpiração. Em contrapartida, em resposta à seca as plantas fecham seus estômatos para evitar a perda de água (JUMRANI & BHATIA, 2019; BALFAGÓN et al., 2020; ZANDALINAS et al., 2020). Utilizando uma combinação de seca e estresse por calor durante a fase reprodutiva da planta de soja, Cohen et al. (2020, 2021) observaram que os estômatos permanecem fechados, aumentando a temperatura destas folhas em aproximadamente de 1 a 2°C, em comparação com a das plantas submetidas à seca ou estresse por calor separadamente. Além disso, estes autores verificaram alguns impactos na produtividade, como a produção de menos grãos e de tamanhos menores.

Além do deficit hídrico imposto às plantas, acrescido do estresse por temperatura visualizado na segunda época de cultivo e dos diferentes genótipos utilizados, um outro fator foi identificado diferindo os experimentos 1 e 2: o tipo de substrato. Segundo Dexter (2004), o índice S possui sensibilidade para identificar a degradação da qualidade física do solo, podendo indicar quando o solo é um limitante ao desenvolvimento de raízes. De forma que, valores maiores de S indicam uma ampla distribuição de tamanho de poros, condizente com condições estruturais que estabelecem um adequado funcionamento físico do solo. O autor também propôs uma classificação com base no índice S, sendo que o módulo de $S > 0,035$ indica condições favoráveis e $S < 0,035$ indica condições restritivas para o crescimento das raízes das plantas. Salientou ainda, que valores de $S < 0,020$ refletem condições físicas do solo muito pobres e com alta restrição ao crescimento das raízes das plantas.

No experimento 1 deste trabalho, o valor de S (= 0,0246) ficou próximo à extremidade inferior da classe dos solos com baixa qualidade estrutural, o que pode ter contribuído para potencializar os efeitos do deficit hídrico nesta época de cultivo. O declínio na estrutura física

do solo suscita a sua degradação e pode influenciar o movimento e retenção da água no solo, erosão, ciclagem de nutrientes, penetração da raiz e, conseqüentemente, a capacidade produtiva deste solo (BRONICK & LAL, 2005). Já no experimento 2, o valor de S (= 0,0511) indicou uma boa qualidade estrutural e boa distribuição dos poros, permitindo que o solo exerça suas funções físicas de forma satisfatória. Esta informação pode ser confirmada pelo maior valor do parâmetro n obtido nessa época de cultivo. O parâmetro n controla a inclinação da curva de retenção e está relacionado com a distribuição granulométrica, tal que maiores valores de n indicam solos com classificação textura mais grossa e melhor distribuição dos poros por tamanho (VAN GENUCHTEN, 1980). O fato deste substrato ter apresentando melhor qualidade pode ter dificultado a imposição do deficit hídrico, refletindo em poucas vagens imaturas abertas.

Importante lembrar que atualmente, grande parte da produção mundial de soja ocorre em condições de sequeiro, caracterizado por altas temperaturas e precipitação baixa ou irregular, além das condições precárias dos solos. Estes fatores combinados podem agravar o problema de abertura de vagens imaturas conforme tudo o que foi exposto. Novos estudos precisam ser desenvolvidos para obter uma visão dos efeitos interativos de todos os fatores envolvidos (disponibilidade hídrica, temperatura e condições do solo) não apenas na produtividade da soja, mas também para compreensão da abertura de vagens imaturas de soja, visto que pode ser causada ou amplificada por diversos outros fatores que ainda precisam ser investigados.

5 CONCLUSÃO

Com o desenvolvimento deste trabalho, conclui-se que o deficit hídrico influencia na porcentagem de vagens imaturas abertas em alguns genótipos de soja e, portanto, esse tratamento pode ser utilizado para a seleção de genótipos tolerantes.

O volume dos grãos entre os estádios R5 e R6 é outro fator que contribui para a abertura de vagens quando ainda estão verdes, por aumentarem a tensão dentro da vagem. De forma que, em condições de deficit hídrico os grãos tendem a ter maiores volumes, assim, a vagem não comporta o tamanho do grão e se rompe. Após a colheita das plantas com ocorrência da abertura de vagens imaturas, os principais danos detectados foram a redução no peso, no tamanho e na qualidade dos grãos formados.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALFAGÓN, D.; ZANDALINAS, S. I.; MITTLER, R.; GÓMEZ-CADENAS, A. High temperatures modify plant responses to abiotic stress conditions. **Physiologia Plantarum**, v. 170, p. 335-344, 2020. <<https://doi.org/10.1111/ppl.13151>>
- BALLESTER, P.; FERRÁNDIZ, C. Shattering fruits: variations on a dehiscent theme. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 35, p. 68-75, 2017. <<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.11.008>>
- BARA, N.; KHARE, D.; SRIVASTAVA, A. N. Studies on the factors affecting pod shattering in soybean. **Indian Journal of Genetics**, v. 73, n. 3, p. 270-277, 2013. <<https://doi.org/10.5958/j.0975-6906.73.3.040>>
- BERNARDO, S.; MANTOVANI, C. E.; SILVA, D. D.; SOARES, A. A.; **Manual de irrigação**. Viçosa-MG, 9ª Edição, p. 545, 2019.
- BHOR, T. J.; CHIMOTE, V. P.; DESHMUKH, M. P. Inheritance of pod shattering in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. **Electronic Journal of Plant Breeding**, v. 5, p. 671-676, 2014.
- BUEZO, J.; SANZ-SAEZ, Á.; MORAN, J. F.; SOBA, D.; ARANJUELO, I.; ESTEBAN, R. Drought tolerance response of high-yielding soybean varieties to mild drought: physiological and photochemical adjustments. **Physiologia Plantarum**, v. 166, n. 1, p. 88-104, 2019. <<https://doi.org/10.1111/ppl.12864>>
- BRONICK, C. J.; LAL, R. Soil structure and management: a review. **Geoderma**, v. 124 (1–2), p. 3-22, 2005. <<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.03.005>>
- CÂMARA, G. M. S. Adubação. In: SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BORÉM, A. **Soja do plantio à colheita**. Viçosa-MG. p. 110-148. 2015.
- CHRISTIANSEN, L. C.; DAL DEGAN, F.; ULVSKOV, P.; BORKHARDT, B. Examination of the dehiscence zone in soybean pods and isolation of a dehiscence-related endopolygalacturonase gene. **Plant, Cell & Environment**, v. 25, n. 4, p. 479 - 490, 2002. <<https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00839.x>>
- COHEN, I.; ZANDALINAS, S. I.; FRITSCHI, F. B.; SENGUPTA, S.; FICHMAN, Y.; AZAD, R. K.; MITTLER, R. The impact of water deficit and heat stress combination on the molecular response, physiology, and seed production of soybean. **Physiologia Plantarum**, p. 1-12, 2020. <<https://doi.org/10.1111/ppl.1326912>>
- COHEN, I.; ZANDALINAS, S. I.; HUCK, C.; FRITSCHI, F. B.; MITTLER, R. Meta-analysis of drought and heat stress combination impact on crop yield and yield components. **Physiologia Plantarum**, v. 171, p 66-76, 2021. <<https://doi.org/10.1111/ppl.13203>>
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa, MG: UFV, v. 1, 512 p., 2012.
- DANTAS, S. A. G. **Estratégia de indução de déficit hídrico em soja e desenvolvimento de GWAS para germinação e vigor de sementes**. Tese (doutorado), Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 80p., 2018. <<https://locus.ufv.br/handle/123456789/22007>>

- DESCLAUX, D.; HUYNH, T. T.; ROUMET, P. Identification of soybean plant characteristics that indicate the timing of drought stress. **Crop Science**, v. 40, p. 716-722, 2000. <<https://doi.org/10.2135/cropsci2000.403716x>>
- DEXTER, A. R. Soil physical quality. Part I. Theory, effects of soil texture, density, and organic matter, and effects on root growth. **Geoderma**, v. 120, p. 201 - 214, 2004. <<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2003.09.004>>
- DONG, Y.; YANG, X.; LIU, J.; WANG, B. H.; LIU, B. L.; WANG, Y. Z. Pod shattering resistance associated with domestication is mediated by a NAC gene in soybean. **Nature Communications**, v. 5, n. 3352, p. 1-11. 2014. <<https://doi.org/10.1038/ncomms4352>>
- DOURADO NETO, D.; NIELSEN, D. R.; HOPMANS, J. W.; REICHARDT, K.; BACCHI, O. O. S.; LOPES, P. P. **Soil water retention curve – SWRC**. Version 3.00. Piracicaba, 2001.
- ERGO, V. V.; LASCANO, R.; VEGA, C. R. C.; PAROLA, R.; CARRERA, C. S. Heat and water stressed field-grown soybean: A multivariate study on the relationship between physiological-biochemical traits and yield. **Environmental and Experimental Botany**, v. 148, p. 1-11, 2018. <<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.12.023>>
- ESTORNELL, L. H.; AGUSTI, J.; MERELO, P.; TALÓN, M.; TADEO, F. R. Elucidating mechanisms underlying organ abscission. **Plant Science**, v. 199:200, p. 48-60, 2013. <<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.10.008>>
- FAROOQ, M.; HUSSAIN, M.; WAHID, A.; SIDDIQUE, K. H. M. Drought stress in plants: An overview. In: Aroca, R. (ed). **Plant Responses to Drought Stress**. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 1-34, 2012. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-32653-0_1>
- FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. **Stages on soybean development**. Ames: Iowa State University/Cooperative Extension Service, (Special Report, 80), p. 11, 1977.
- FLEXAS, J.; GALLÉ, A.; GALMÉS, J.; RIBAS-CARBO, M.; MEDRANO, H. The response of photosynthesis to soil water stress. In: **Plant Responses to Drought Stress**. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, p 129–144, 2012. <<https://doi.org/10.1007/978-3-642-32653-0>>
- FUNATSUKI, H.; ISHIMOTO, M.; TSUJI, H.; KAWAGUCHI, K.; HAJIKA, M.; FUJINO, K. Simple sequence repeat markers linked to a major QTL controlling pod shattering in soybean. **Plant Breeding**, v. 125, p. 195-197, 2006. <<https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2006.01199.x>>
- FUNATSUKI, H.; SUZUKI, M.; HIROSE, A.; INABA, H.; YAMADA, T.; HAJIKA, M.; KOMATSU, K.; KATAYAMA, T.; SAYAMA, T.; ISHIMOTO, M. Molecular basis of a shattering resistance boosting global dissemination of soybean. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, p. 17797-17802, 2014. <<https://doi.org/10.1073/pnas.1417282111>>
- GAVILLI, E.; MOOSAVI, A. A.; HAGHIGHI, A. A. K. Does biochar mitigate the adverse effects of drought on the agronomic traits and yield components of soybean? **Industrial Crops and Products**, v. 128, p. 445-454, 2019. <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.11.047>>
- GIBSON, L.; MULLEN, R. Soybean seed quality reductions by high day and night temperature. **Crop Science**, v. 36, p. 1615-1619, 1996. <<https://doi.org/10.2135/cropsci1996.0011183X003600060034x>>

- JUMRANI, K.; BHATIA, V. S. Interactive effect of temperature and water stress on physiological and biochemical processes in soybean. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 25, p. 667-681, 2019. <<https://doi.org/10.1007/s12298-019-00657-5>>
- KRISNAWATI, A.; ADIE, M. M. Identification of soybean genotypes for pod shattering resistance associated with agronomical and morphological characters. **Biosaintifika**, v. 9, n. 2, p. 193-200, 2017a. <<https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v9i2.8716>>
- KRISNAWATI, A.; ADIE, M. M. Variability on morphological characters associated with pod shattering resistance in soybean. **Biodiversitas**, v. 18, n. 1, p. 73-77, 2017b. <<https://doi.org/10.13057/biodiv/d180111>>
- MUALEM, Y. A new model for predicting the hydraulic conductivity of unsaturated porous media. **Water Resource Research**, v. 12, p. 513-522, 1976. <<https://doi.org/10.1029/WR012i003p00513>>
- NASCIMENTO, H. R. **Identificação de caracteres e seleção de genótipos de soja Tolerantes ao déficit hídrico**. Tese (doutorado), Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 83p., 2020.
- PALHARINI, W. G. **Influência do estresse hídrico sobre caracteres agrônômicos, fisiológicos e abertura de vagens imaturas em soja**. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 44 p., 2016. <<https://locus.ufv.br/handle/123456789/9284>>
- PATHARKAR, O. R.; WALKER, J. C. Connections between abscission, dehiscence, pathogen defense, drought tolerance, and senescence. **Plant Science**, v. 284, p. 25-29, 2019. <<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.03.016>>
- RICHARDS, L. A. Physical conditions of water in soil. In: BLACK, C. A., EVANS, D. D.; WHITE, J. L.; CLARK, F. E. (ed.). **Methods of soil analysis - physical and mineralogical properties, including statistics of measurements and sampling**. Madison, ASASSSA, p.128-152, 1965.
- SEDIYAMA, T.; SILVA, F. L.; BORÉM, A. **Soja do plantio à colheita**. Viçosa-MG, p. 333, 2015.
- SCHOLANDER, P. F.; HAMMEL, H. T.; BRADSTREET, E. D.; HEMMINGSEN, E. A. Sap pressure in vascular plants. **Science**, v. 148, p. 339-346, 1965. <<https://doi.org/10.1126/science.148.3668.339>>
- TIWARI, S.; BHATIA, V. S. Characterization of pod anatomy associated with resistance to pod-shattering in soybeans. **Annals of Botany**, v. 72, p. 483-485, 1995. <<https://doi.org/10.1006/anbo.1995.1123>>
- TSUCHIYA, T. Physiological and genetic analysis of pod shattering in soybeans. *Japan Agricultural Research Quarterly*, v. 21, p. 166-175, 1987.
- VAN GENUCHTEN, M. T. A closed-form equation for predicting the hydraulic conductivity of unsaturated soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 44, p. 892-898, 1980. <<https://doi.org/10.2136/sssaj1980.03615995004400050002x>>
- XIONG, R.; LIU, S.; CONSIDINE, M. J.; SIDDIQUE, K. H. M.; LAM, H-M.; CHEN, Y. Root system architecture, physiological and transcriptional traits of soybean (*Glycine max* L.) in

response to water deficit: A review. **Physiologia Plantarum**, p. 1-14, 2020. <<https://doi.org/10.1111/ppl.13201>>

ZANDALINAS, S. I.; FRITSCHI, F. B.; MITTLER, R. Signal transduction networks during stress combination. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, p. 1734-1741, 2020. <<https://doi.org/10.1093/jxb/erz486>>

ZHANG, L.; BOAHEN, L. Evaluation of critical shattering time of early-maturity soybeans under early soybean production system. **Agriculture and Biology Journal of North America**, v. 1:4, p. 440-447, 2010. <<https://doi.org/10.5251/abjna.2010.1.4.440.447>>

ZHANG, J.; SINGH, A. K. Genetic control and geo-climate adaptation of pod dehiscence provide novel insights into soybean domestication. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, v. 10, n. 2, p. 545-554, 2020. <<https://doi.org/10.1534/g3.119.400876>>

ZHANG, Q.; TU, B.; LIU, C.; LIU, X. Pod anatomy, morphology and dehiscing forces in pod dehiscence of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. **Flora**, v. 248, p. 48-53, 2018. <<https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.08.014>>

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela Suplementar 1 - Genótipos (cultivares e linhagens) de soja utilizados para a realização dos experimentos.

(continua)

Genótipo	Evento transgênico	Grupo de Maturidade	Hábito de Crescimento
50i52 RSF IPRO (Raio)	Intacta	5.0	Indeterminado
55i57 RSF IPRO (Zeus)	Intacta	5.5	Indeterminado
57HO123 TP IPRO	Intacta	5.7	Indeterminado
5855 RSF IPRO (Elite)	Intacta	5.5	Indeterminado
58HO110 MM IPRO	Intacta	5.9	Indeterminado
58i60 RSF IPRO (Lança)	Intacta	5.8	Indeterminado
5953 RSF (Veloz)	Roundup Ready	5.0	Indeterminado
6211 IPRO	Intacta	-	-
6262 RSF IPRO	Intacta	-	-
63i64 RSF IPRO (Garra)	Intacta	6.3	Indeterminado
68i70 RSF IPRO (Ícone)	Intacta	6.8	Indeterminado
7166 RSF IPRO (Ponta)	Intacta	6.6	Indeterminado
73i70 RSF IPRO (Power)	Intacta	7.3	Indeterminado
74i77RSF IPRO	Intacta	7.2	Indeterminado
75HO111 CI IPRO	Intacta	7.2	Indeterminado
75i77 RSF IPRO (Ultra)	Intacta	7.6	Indeterminado
75i79 RSF IPRO	Intacta	7.3	-
76MS00 IPRO	Intacta	7.6	Indeterminado
8075 RSF (Prisma)	Intacta	7.5	Indeterminado
8077 RSF (Forte)	Roundup Ready	7.7	Indeterminado
80i84 RSF IPRO (Certa)	Intacta	8.0	Indeterminado
82MS00 IPRO	Intacta	8.2	Indeterminado
83HO113 TP IPRO	Intacta	8.3	Indeterminado
8579 RSF (Bônus)	Intacta	7.9	Indeterminado
9086 RSF (Opus)	Intacta	8.6	Determinado
ADV 4681 IPRO	Intacta	8.1	Determinado
ANTA 82	Roundup Ready	7.4	Semi determinado
AS 3570 IPRO	Intacta	5.7	Semi determinado
AS 3810 IPRO	Intacta	8.1	Determinado
AS 3820 IPRO	Intacta	8.2	Determinado
BMX Potência RR	Roundup Ready	6.7	Indeterminado
CD 2728	Intacta	7.2	Indeterminado
CD 2737	Roundup Ready	7.3	Indeterminado
DM 4338	Intacta	-	-
DM 4347	Intacta	-	-
DM 5.8i	Roundup Ready	5.5	Indeterminado
DM 53i54 RSF IPRO	Intacta	5.4	Indeterminado
DM 54i52 RSF IPRO	Intacta	5.4	Indeterminado
DM 61i59 RSF IPRO	Intacta	6.1	Indeterminado
DM 6563 RSF IPRO	Intacta	6.3	Indeterminado
DM 7.8i	Roundup Ready	-	Indeterminado

Tabela Suplementar 1 - Genótipos (cultivares e linhagens) de soja utilizados para a realização dos experimentos.

(continuação)

Genótipo	Evento transgênico	Grupo de Maturidade	Hábito de Crescimento
GDM 15A004	Roundup Ready	6.1	-
GDM 15C004	Convencional	8.0	-
GDM 15I010	Intacta	7.2	-
GDM 15I011	Intacta	7.5	-
GDM 15I012	Intacta	7.6	-
GDM 15I013	Intacta	7.8	-
GDM 15I014	Intacta	7.8	-
GDM 15I015	Intacta	7.8	-
GDM 15I016	Intacta	8.6	-
GDM 15I017	Intacta	8.5	-
GDM 15I018	Intacta	7.5	-
GDM 15I024	Intacta	5.3	-
GDM 15I027	Intacta	6.2	-
GDM 15I032	Intacta	6.0	-
GDM 15I033	Intacta	6.1	-
GDM 15I035	Intacta	6.2	-
GDM 15I041	Intacta	6.0	-
GDM 15I042	Intacta	6.0	-
GDM 15I050	Intacta	8.0	-
GDM 15I054	Intacta	9.0	-
GDM 15I075	Intacta	7.5	-
GDM 15I079	Intacta	8.4	-
IGRA 645 TR	Roundup Ready	6.2	-
L60150 IPRO	Intacta	5.0	Indeterminado
LG 60163 IPRO	Intacta	6.3	Semi determinado
M 5947	Intacta	5.9	Indeterminado
M 7739 IPRO	Intacta	7.7	Semi determinado
M 8133 IPRO	Intacta	8.1	Determinado
M 8349	Intacta	8.3	Determinado
M 8372	Intacta	8.3	Determinado
M 8644	Intacta	8.6	Determinado
M 8808	Intacta	8.8	Determinado
M-SOY 7639	Roundup Ready	7.6	Indeterminado
M-SOY 5730 IPRO	Intacta	5.7	Indeterminado
NA 7337	Roundup Ready	7.5	Semi determinado
NS 5727	Intacta	5.7	Indeterminado
NS 6006	Intacta	5.7	Indeterminado
NS 6909	Intacta	6.3	Indeterminado
NS 7300	Intacta	7.0	Indeterminado
NS 7490	Roundup Ready	7.4	Indeterminado
NS 7901	Roundup Ready	7.9	Indeterminado
P 95Y21	Convencional	5.2	-
P 95Y72	Roundup Ready	5.0	Indeterminado
P 98Y30	Roundup Ready	8.3	-

Tabela Suplementar 1 - Genótipos (cultivares e linhagens) de soja utilizados para a realização dos experimentos.

(conclusão)

Genótipo	Evento transgênico	Grupo de Maturidade	Hábito de Crescimento
RK 8317 IPRO	Intacta	8.3	Indeterminado
ROOS CAMINO	Convencional	5.3	Indeterminado
SYN 1080	Roundup Ready	8.0	-
SYN 1285	Roundup Ready	8.5	-
TMG 1179	Roundup Ready	7.9	Determinado
TMG 1180	Roundup Ready	8.0	Semi determinado
TMG 1288	Roundup Ready	8.8	Determinado
TMG 2181	Intacta	8.1	Determinado
TMG 4182	Convencional	8.2	Determinado
TMG 4185	Convencional	8.5	Determinado
TMG 4190	Convencional	9.0	Determinado
TMG 7062	Intacta	6.2	Semi determinado
TMG 7262	Roundup Ready	6.2	Semi determinado
TMG 7363	Roundup Ready	6.3	Indeterminado

Tabela Suplementar 2 - Comparação entre as médias dos caracteres agrônômicos avaliados nos tratamentos estresse e controle nos experimentos 1 e 2.

Variáveis	EXPERIMENTO 1		EXPERIMENTO 2	
	Média no tratamento estresse	Média no tratamento controle	Média no tratamento estresse	Média no tratamento controle
NOS	14,46 a	14,62 a	15,91 a	15,97 a
NHL	6,70 a	6,90 a	6,67 a	6,79 a
NV	53,16 b	71,95 a	48,88 b	63,66 a
NG	111,23 b	152,31 a	102,83 b	138,59 a
M100	14,57 a	13,33 b	12,21 b	13,26 a
NMGV	2,11 a	2,14 a	2,12 b	2,19 a
PVCH	0,09 a	0,06 b	0,07 a	0,03 b
COMV	43,54 b	45,14 a	44,49 b	45,79 a
LARV	9,18 b	9,45 a	9,44 b	9,61 a
ESPV	6,42 a	6,12 b	6,21 b	6,41 a
VG1	111,81 a	103,72 b	93,15 b	104,22 a
VG2	123,93 a	114,59 b	111,68 b	121,63 a
VG3	123,85 a	115,05 b	112,51 b	120,59 a
VCC	329,50 a	320,85 b	354,26 b	378,31 a

PVA: porcentagem de vagens imaturas abertas; NOS: número de nós na haste principal; NHL: número de hastas laterais; NV: número de vagens totais; NG: número de grãos totais; M100: massa de 100 grãos (gramas); NMGV: número médio de grãos por vagem; PVCH: porcentagem de vagens chochas; COMV: comprimento da vagem (milímetros); LARV: largura da vagem (milímetros); ESPV: espessura da vagem (milímetros); VG1, VG2 e VG3: volumes dos grãos 1, 2 e 3, respectivamente (milímetros³); VCC: volume da cavidade central (milímetros³).

As médias (dentro dos experimentos) seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com o teste F ($p \leq 0,05$).

CAPÍTULO 2 - MORFOANATOMIA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE VAGENS DE SOJA ABERTAS IMATURAMENTE SOB DEFICIT HÍDRICO

RESUMO

Assim como na deiscência, a abertura de vagens imaturas de soja é potencializada pelo deficit hídrico. Contudo, apesar dos processos e mudanças estruturais das vagens serem bem esclarecidos na deiscência, poucas informações são disponíveis para a compreensão dos eventos e fatores a contribuir para a abertura de vagens imaturas. Assim, o objetivo deste trabalho foi associar as características morfoanatômicas e composição mineral e de fibras das vagens de soja, para explicar a ocorrência da abertura de vagens imaturas sob deficit hídrico. Para isto, realizamos um experimento em casa de vegetação com 99 genótipos de soja cultivados sob deficit hídrico (tratamento estresse) e sob condições de irrigação ideal (tratamento controle), avaliados em três blocos. Ao final, selecionamos três genótipos de soja que apresentam a abertura em vagens imaturas e três genótipos com vagens imaturas que não abriram. Foram avaliadas as estruturas da sutura ventral da vagem, mensurando-se a área do feixe vascular (VBA), a área, largura e altura da *fiber cap cells* (FCCA, FCCW e FCCH, respectivamente) e a altura da linha de abscisão (ALH). Além da composição de fibras (fibra em detergente neutro - FDN, fibra em detergente ácido - FDA, celulose - CEL, hemicelulose – HEM e lignina – LIG) e de macro e micronutrientes (N, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, P, K, S e B) nas cascas das vagens desses genótipos. As variáveis B, N e LIG apresentaram correlações significativas positivas com a porcentagem de vagens imaturas abertas (PVA). Já as variáveis Mn, Mg, FCCAr6, FCCAr6 e VBAr6 apresentaram correlações significativas negativas com a PVA. A PCA Biplot foi eficiente para dissociar as amostras do tratamento controle do estresse. Porém, não foi possível dissociar os escores que representam os genótipos que abriram vagens dos escores que representam as demais amostras do tratamento estresse. As estruturas da sutura ventral da vagem tiveram maior contribuição com o tratamento controle, apresentando os vetores de maior comprimento e em direção aos escores que representam as amostras deste tratamento. Por outro lado, as variáveis PVA, B, N, FDN e HEM contribuíram em maior magnitude para o tratamento estresse, tendo seus vetores plotados na direção dos escores que representam este tratamento. Com base nas análises da morfoanatomia, observamos que, sob deficit hídrico, ocorre uma diminuição das dimensões das estruturas da sutura ventral ao qual se atribui uma redução proporcional da resistência e, como consequência, maior frequência de abertura das vagens imaturas. Além disso, visualizamos que o rompimento das vagens não

ocorre, necessariamente, sob a região da FCC e da AL. Além da influência do genótipo, o déficit hídrico contribui para as alterações estruturais e composição das células na região da sutura ventral e, assim favorecendo a abertura de vagens verdes de soja. Este efeito do déficit hídrico também foi observado em termos da composição de fibras e no conteúdo de alguns macros e micronutrientes nas vagens de soja.

Palavras-chave: Seca. Abertura de vagens verdes. Sutura ventral. Fibras. Macro e micronutrientes.

1 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L) Merrill] é uma planta herbácea, da família Fabaceae (Leguminosae). O fruto do tipo vagem (legume) é levemente arqueada, pubescentes, que se desenvolve em duas valvas a partir de um único carpelo que envolve os locus onde as sementes são formadas. A sutura dorsal corresponde à veia principal do carpelo, enquanto a sutura ventral corresponde à fusão das duas margens do carpelo (CARLSON & LERSTEN, 2004). Plantas silvestres de soja apresentam um processo chamado de deiscência, onde ocorre a separação das duas valvas da vagem, como forma de disseminar a sua progênie e aumentar as oportunidades de sobrevivência da espécie (BENNETT et al., 2011; FUNATSUKI et al., 2014).

No entanto, em culturas domesticadas a resistência à deiscência foi preferencialmente selecionada, devido às perdas de produtividade nessas situações (BHOR et al., 2014). A deiscência é precedida pela formação de fendas ao longo do parênquima das suturas dorsal e/ou ventral, onde a vagem se abre ao alcançar a maturidade (CHRISTIANSEN et al., 2002; ZHANG et al., 2018). De forma análoga à deiscência, tem-se relatado a ocorrência da abertura de vagens imaturas em campo, quando as vagens ainda se encontram verdes no final da fase de enchimento dos grãos (PALHARINI, 2016). Esta abertura das vagens imaturas tem causado danos aos grãos, que se deterioram após a abertura, reduzindo a sua produtividade e qualidade.

No caso da deiscência, o processo de abertura das vagens é agravado sob condições de baixa umidade do ar, alta temperatura, mudanças rápidas de temperatura e eventos de umedecimento seguidos de secagem (AGRAWAL et al., 2002; ZHANG & BOAHEN, 2010; ZHANG & SINGH, 2020). À medida que ocorre a desidratação da casca da vagem, o exocarpo e o mesocarpo encolhem, promovendo uma tensão atribuída ao endocarpo, desenvolvendo uma redução da força de ligação das paredes da vagem, além da geração de forças nas zonas de deiscência (PATHARKAR & WALKER, 2019). Somado às condições ambientais, o genótipo desempenha um papel importante na expressão da deiscência das vagens (BHOR et al., 2014).

Algumas características morfoanatômicas e químicas de composição das vagens podem conferir maior resistência ao processo de deiscência em alguns genótipos de soja (ROMKAEW et al., 2008; BARA et al., 2013; ADEYEYE et al., 2014; KRISNAWATI & ADIE, 2017a; 2017b). Romkaew et al. (2008) identificaram variação no conteúdo de lignina nas vagens entre alguns genótipos de soja, podendo ser um fator importante para a seleção de material resistente à deiscência das vagens. Neste mesmo sentido, Dong et al. (2014) descobriram que a lignificação excessiva de células da *fiber cap cells* conferiu o fenótipo resistente à deiscência. A estrutura morfoanatômica nas suturas ventrais e dorsais das vagens, como o feixe vascular

(VB), a zona de deiscência ou linha de abscisão (AL) e as *fiber cap cells* (FCC), exercem função importante no processo de deiscência das vagens (SUZUKI et al., 2009; DONG et al., 2014; TU et al., 2019). Estes autores sugerem que as dimensões destas estruturas podem estar associadas ao grau de deiscência da vagem. Além disso, sabemos que o deficit hídrico pode influenciar na absorção de nutrientes que são fundamentais na formação de vagens e dos grãos de soja, como por exemplo o cálcio, um importante constituinte da parede celular (WHITE & BROADLEY, 2003). A disponibilidade deste nutriente às plantas pode diminuir com o deficit hídrico (WIJEWARDANA et al., 2019). Assim, uma avaliação destes constituintes pode auxiliar no entendimento da abertura de vagens imaturas da soja quando submetidas à deficiência hídrica.

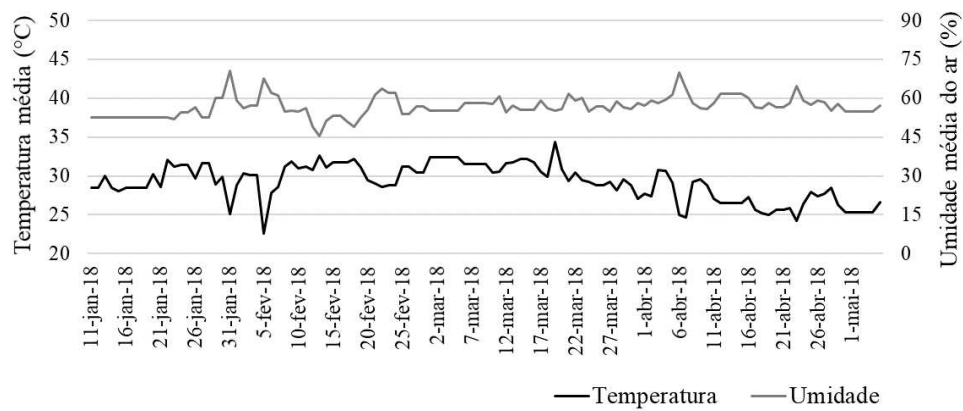
A literatura relata de forma ampla e detalhada a ocorrência da deiscência que ocorre no final da fase de maturação das vagens (DONG et al., 2014; FUNATSUKI et al., 2014; KRISNAWATI & ADIE, 2017a; 2017b; ZHANG et al., 2018; TU et al., 2019). Contudo, não existem estudos que relatam as causas para a ocorrência da abertura de vagens imaturas, que ocorre quando as vagens ainda se encontram verdes e com algum conteúdo de umidade. Com base em estudos prévios, notou-se a influência do genótipo e das condições ambientais, mais especificamente do deficit hídrico, sob a ocorrência da abertura de vagens imaturas em soja. Estudos mais detalhados, como uma abordagem da anatomia/histologia das vagens podem contribuir para a compreensão deste processo sob condições adversas e a relação entre a morfoanatomia com os componentes da vagem e a sua abertura enquanto ainda imatura. O conhecimento sobre estas características fornecerá informações úteis para a seleção de genótipos resistentes a este tipo de abertura. Assim, o objetivo do trabalho foi associar aspectos da composição química e características morfoanatômicas de vagens de genótipos de soja com a abertura ou não das vagens imaturas quando submetidas ao deficit hídrico.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Condução do ensaio

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na cidade de Viçosa - Minas Gerais/Brasil, latitude 20°45'17" Sul, longitude 42°52'57" Oeste e 649 metros de altitude, no período de janeiro a maio de 2018. As temperaturas e umidades do ar no interior da casa de vegetação no período de realização do experimento, foram medidas com o auxílio de termo-higrômetro (modelo K29-5070H - Kasvi) e estão representadas na Figura 1. A temperatura e umidade média do ar foram 29°C e 56%, respectivamente.

Figura 1 - Temperaturas e umidades médias dentro da casa de vegetação no período de condução do experimento.



O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados em esquema fatorial 99 x 2, sendo 99 genótipos de soja e 2 regimes de irrigação, avaliados em 3 blocos. Os regimes de irrigação foram chamados de tratamento controle (sem deficit hídrico) e tratamento estresse (com deficit hídrico). A parcela experimental foi composta de uma planta cultivada em um vaso com volume de sete litros, contendo substrato preparado com solo, areia e esterco animal, na proporção de 3:1:2. O substrato preparado foi classificado com textura franco-argilo-arenosa, e sua correção mineral foi realizada com base em análise química, utilizando valores de extração da cultura para produção de 3000 kg ha⁻¹ (CÂMARA, 2015). Os demais tratamentos culturais foram realizados conforme o recomendado para a cultura da soja (SEDIYAMA et al., 2015).

Regimes de irrigação

A metodologia utilizada para definir os regimes de irrigação e impor o deficit hídrico às plantas de soja em casa de vegetação foi adaptada pelo Programa de Melhoramento da Soja da Universidade Federal de Viçosa, como descrito por Dantas (2018).

No tratamento controle o solo foi mantido próximo a capacidade de campo (CC), durante todo o ciclo da cultura, em um potencial hídrico de -33 Kilopascal (kPa). Já no tratamento estresse, o potencial hídrico utilizado foi de -900 kPa, mantendo o solo próximo a 50% da CC, entre os estádios reprodutivos R3 (início da formação de vagens, conforme escala proposta por FEHR & CAVINESS, 1977) e R6 (enchimento completo dos grãos). Nos demais estádios, as plantas conduzidas no tratamento de estresse hídrico foram mantidas sob irrigação normal, próximo a CC.

Para obter a umidade ideal do solo nos tratamentos controle e estresse (com tensões de -33 e -900 kPa, respectivamente), foi obtida uma curva de retenção de água para o substrato utilizado por meio da câmara de pressão de Richards (RICHARDS, 1965). A curva de retenção foi feita utilizando as tensões de -6, -10, -30, -50, -100, -200, -500 e -1500 kPa, obtendo-se, respectivamente, as umidades 25,34%, 22,41%, 20,67%, 19,30%, 17,86%, 17,24%, 14,95% e 12,10%. A partir dos resultados obtidos, fez-se um ajuste dos dados por meio do modelo proposto por Van Genuchten (1980), com o auxílio do aplicativo *Soil Water Retention Curves* (SWRC, versão 3.00 beta), desenvolvido por Dourado-Neto et al. (2001). Gerando-se a equação ($R^2 = 0,97$):

$$\theta = 0,0419 + \frac{0,2651 - 0,0419}{[1 + (0,1667\Psi)^{1,1705}]^{0,1457}}$$

no qual Ψ é o potencial hídrico desejado (-kPa). Por intermédio desta equação, foi possível calcular as umidades (θ) requeridas para os tratamentos controle e estresse, que foram 20,24% e 12,98%, respectivamente. Foi utilizado o método de pesagem diária dos vasos, com a finalidade de calcular a lâmina de água a ser aplicada para manter a umidade ideal em cada tratamento.

Seleção dos genótipos avaliados

Para este trabalho, dentre os 99 genótipos de soja cultivados, foram selecionados os três genótipos que apresentaram maiores porcentagens de vagens imaturas abertas, ou seja, vagens abertas nos estádios reprodutivos R5 ou R6. São eles: GDM 15C004, BMX Prisma e TMG 4190 (Figura 2).

Figura 2 - Vagens dos genótipos A) GDM 15C004, B) Prisma e C) TMG 4190 que apresentaram abertura imatura.



Para efeito de comparação foram selecionados outros três genótipos que não apresentaram abertura de vagens imaturas. A seleção dos genótipos P 95Y21, BMX Potência e MSOY 7639 foi feita observando-se uma certa variabilidade das características, de forma que possuem grupos de maturidade iguais a 5.2, 6.7 e 7.6, respectivamente. O genótipo P 95Y21 é

convencional, e o BMX Potência e o MSOY 7639 possuem o evento transgênico Roundup Ready.

Assim, os genótipos foram divididos em dois grupos:

Grupo 1: genótipos que abriram vagens - GDM 15C004, BMX Prisma e TMG 4190; e

Grupo 2: genótipos que não abriram vagens - P 95Y21, BMX Potência e MSOY 7639.

As médias dos caracteres agrônômicos avaliados anteriormente para estes genótipos estão apresentadas na Tabela Suplementar 1.

Avaliação dos parâmetros morfoanatômicos

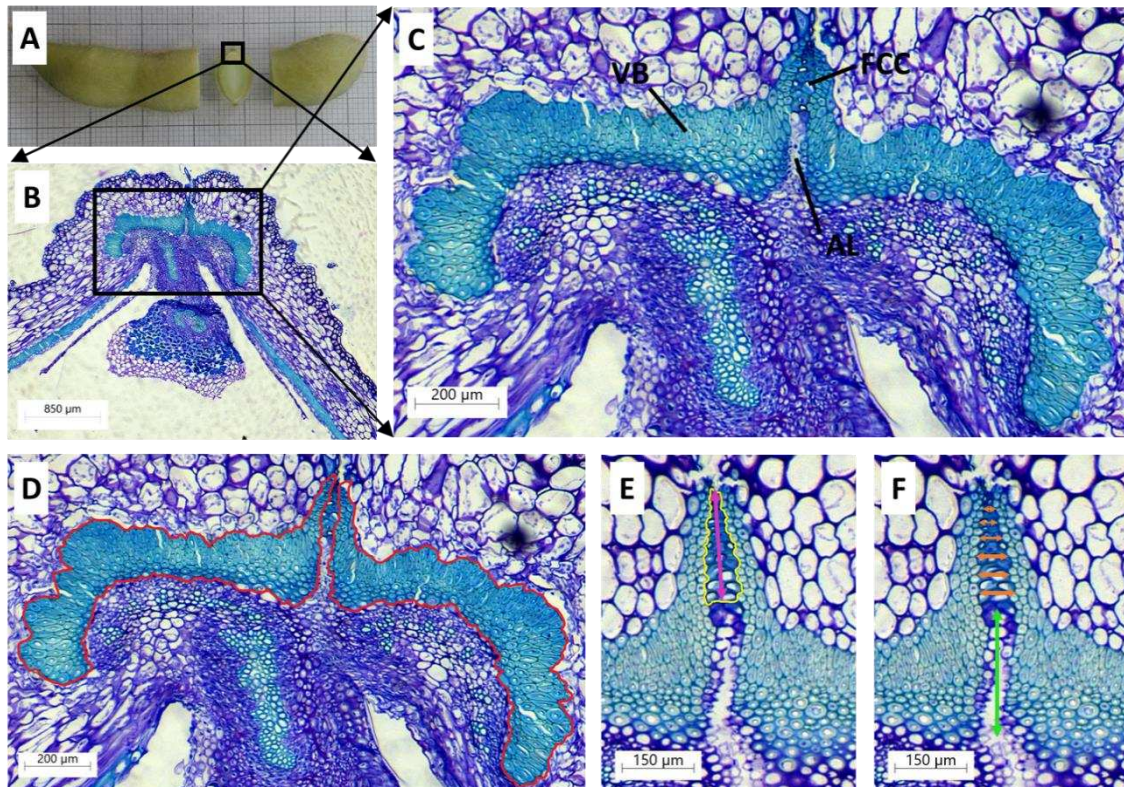
Uma vagem por parcela no estádio reprodutivo R6 (vagens verdes e grãos cheios) foi coletada para avaliação dos parâmetros morfoanatômicos em microscopia de luz. Uma amostra de 3 milímetros de espessura foi seccionada no plano transversal destas vagens (Figura 3A) com o auxílio de navalhas de aço descartáveis. As amostras foram colocadas em frascos com volume de 15 mililitros, fixadas em FAA (formaldeído: ácido acético: etanol 50%, nas proporções de 9:1:1) e mantidas sob vácuo por 48 horas. Posteriormente, as amostras foram armazenadas em álcool etílico 70% até o momento da análise (JOHANSEN, 1940).

As amostras foram desidratadas em série etílica a 70, 80, 90 e 100%, sequencialmente, por 2 horas para cada etapa. Em seguida, o material foi infiltrado e incluído em historesina metacrilato (Historesin - Leica Microsystems Nussloch, Heidelberg, Germany) conforme recomendação do fabricante. Cortes transversais (espessura de 5 micrômetros) foram obtidos em micrótomo rotativo de avanço automático (modelo RM 2155, Leica Microsystems Inc., Deerfield, USA) com auxílio de navalhas de vidro e depositados em lâmina de vidro. Os cortes foram corados mantendo-se as lâminas imersas por 8 minutos em solução de azul de toluidina a 0,05% em pH 4,0 e, em seguida, lavados em água corrente (O'BRIEN & MCCULLY, 1981). Após a secagem, as lâminas foram montadas em resina sintética (Permount®, Fisher).

As imagens foram obtidas em microscópio de luz (modelo AX-70 TRF, Olympus Optical, Tokyo, Japan) com uma lente de aumento de 4X, acoplado a câmera fotográfica digital (modelo Zeiss AxioCam HRc, Göttinger, Germany) e a um computador com o software de captura de imagens Axion Vision. As imagens capturadas foram avaliadas utilizando o software Image-Pro Plus (versão 4.5.0.29, Media Cybernetics, Silver Spring, USA) (Figura 3B).

Foi mensurado nas imagens a área do feixe vascular (VBA, em mm²), a área da *fiber cap cells* (FCCA, em mm²), a altura da FCC (FCCH, em mm), a largura média da FCC (FCCW, em mm) e a altura da linha de abscisão (ALH, em mm) (Figura 3C). Estas estruturas foram identificadas com base na descrição feita por DONG et al. (2014).

Figura 3 - **A**) Coleta das amostras para análises morfoanatômicas; **B**) Corte transversal da sutura ventral de uma vagem de soja no estágio de desenvolvimento R6 (Escala: 850 μm); **C**) Região da *fiber cap cells* (FCC) localizada na junção entre dois feixes vasculares (VB) com a linha de abscisão (AL) abaixo (Escala: 200 μm); variáveis analisadas: **D**) Área dos feixes vasculares (VBA, contornada pela cor vermelha) (Escala: 200 μm); **E**) Área da *fiber cap cells* (FCCA, contornada pela cor amarela) e Altura da *fiber cap cells* (FCCH, seta na cor rosa) (Escala: 150 μm); e **F**) Largura média da *fiber cap cells* (FCCW, setas na cor laranja) e Altura da linha de abscisão (ALH, seta na cor verde) (Escala: 150 μm).



Análise química de fibras nas vagens

A análise química de fibras foi realizada em vagens (sem os grãos) em estágio de desenvolvimento R8, quantificando-se o teor de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LIG), celulose (CEL) e hemicelulose (HEM). As amostras de vagens foram submetidas à pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 60°C durante 72 horas, em seguida foram processadas em moinho de facas tipo Willy com peneira de porosidade de 1 milímetro, acondicionadas e armazenadas em potes plásticos com tampa à temperatura ambiente. Então, as amostras de vagens foram submetidas à quantificação dos teores de matéria seca (MSV), com secagem a 105°C por 16 horas, pelo método proposto pela AOAC (1990). A determinação de FDN e FDA foram realizadas utilizando autoclave e a quantificação de LIG pelo método da hidrólise ácida, conforme descrito por Van Soest e Robertson (1985). Os teores de CEL foram calculados com base na diferença entre os teores de FDA e LIG; e os teores de

HEM com base na diferença entre os teores de FDN e FDA (VAN SOEST & WINE, 1967). Todas estas frações químicas são expressas como porcentagens da matéria orgânica seca (% de MS) após subtrair o peso das cinzas.

Análise de macro e micronutrientes

Para a quantificação de macro e micronutrientes foram utilizadas vagens de soja colhidas após a maturação (estádio de desenvolvimento R8). As amostras de vagens foram separadas dos grãos, secas em estufa com ventilação forçada a 60°C por 72 horas e em seguida moídas em moinho de facas tipo Wiley, passando-se a amostra em peneira com malha de 1 milímetro. A metodologia utilizada para análise e determinação dos teores do Nitrogênio (N), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Ferro (Fe), Zinco (Zn), Cobre (Cu), Manganês (Mn), Fósforo (P), Potássio (K), Enxofre (S) e do Boro (B) nas vagens, seguiram os padrões sugeridos por Malavolta et al. (1997).

Análise estatística

As médias e erro padrão das variáveis relacionadas aos teores de fibras (FDN, FDA, CEL, HEM e LIG), macro e micronutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Cu, Mn e B) e estruturas morfoanatômicas da sutura ventral das vagens (VBAr6, FCCAr6, FCCHr6, FCCWr6 e ALHr6) para os dois grupos de genótipos, foram plotados em gráficos com o uso do Excel®.

As médias de PVA e das demais variáveis, avaliados nos tratamentos controle e estresse, foram correlacionados entre si, por meio de análise de correlação de Pearson, utilizando-se o pacote “corrplot” no software estatístico RStudio® (version 1.3.959, disponível em <http://www.rstudio.com/>).

As relações entre todas as variáveis e as observações dos seis genótipos foram avaliadas por meio da análise de componentes principais com representação gráfica do tipo biplot (PCA Biplot). Para isto, utilizou-se o pacote “factoextra” no software estatístico RStudio® (version 1.3.959, disponível em <http://www.rstudio.com/>).

A análise de *eXtreme Gradient Boosting* (XGBoost), é um algoritmo baseado em *Decision Trees* (árvores de decisão) com *Gradient Boosting* (aumento de gradiente) e foi utilizado neste trabalho para identificar as variáveis mais importantes, dentre as variáveis que apresentaram correlação significativa, na predição da PVA. A função “XGBClassifier” da biblioteca “xgboost” foi utilizada para a construção do modelo, na qual foi aplicado a proporção de 60:40 para a divisão dos dados em grupos de treinamento e teste, respectivamente. Foi utilizado a linguagem Python por meio do aplicativo Notebook Jupyter (versão 6.0.3) no

software Anaconda Navigator[®] (versão 1.9.12, disponível em <https://docs.anaconda.com/anaconda/install/>).

3 RESULTADOS

Dentre os genótipos avaliados, quando submetidos ao déficit hídrico, os genótipos do grupo 1, GDM 15C004, BMX Prisma e TMG 4190, apresentaram respectivamente, 33, 20 e 13% das vagens abertas quando ainda estavam imaturas (no estágio de desenvolvimento R6 – vagens verdes e grãos completamente cheios). Ainda, os genótipos GDM 15C004 e TMG 4190 tiveram 0.5% das vagens imaturas abertas também no tratamento controle, com disponibilidade ideal de água. Demonstrando que são genótipos suscetíveis à abertura de vagens imaturas. Cabe ressaltar que a abertura ocorreu na sutura ventral das vagens imaturas em todos estes genótipos. Os genótipos do grupo 2, P 95Y21, BMX Potência e MSOY 7639, não apresentaram abertura de vagens imaturas em nenhum dos tratamentos de irrigação. As médias das demais variáveis analisadas, a saber, teores de fibras (FDN, FDA, CEL, HEM e LIG), de macro e micronutrientes (N, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, P, K, S e B) e as dimensões das estruturas da sutura ventral das vagens (VBAr6, FCCAr6, FCCHr6, FCCWr6 e ALHr6) estão apresentadas na Figura 4.

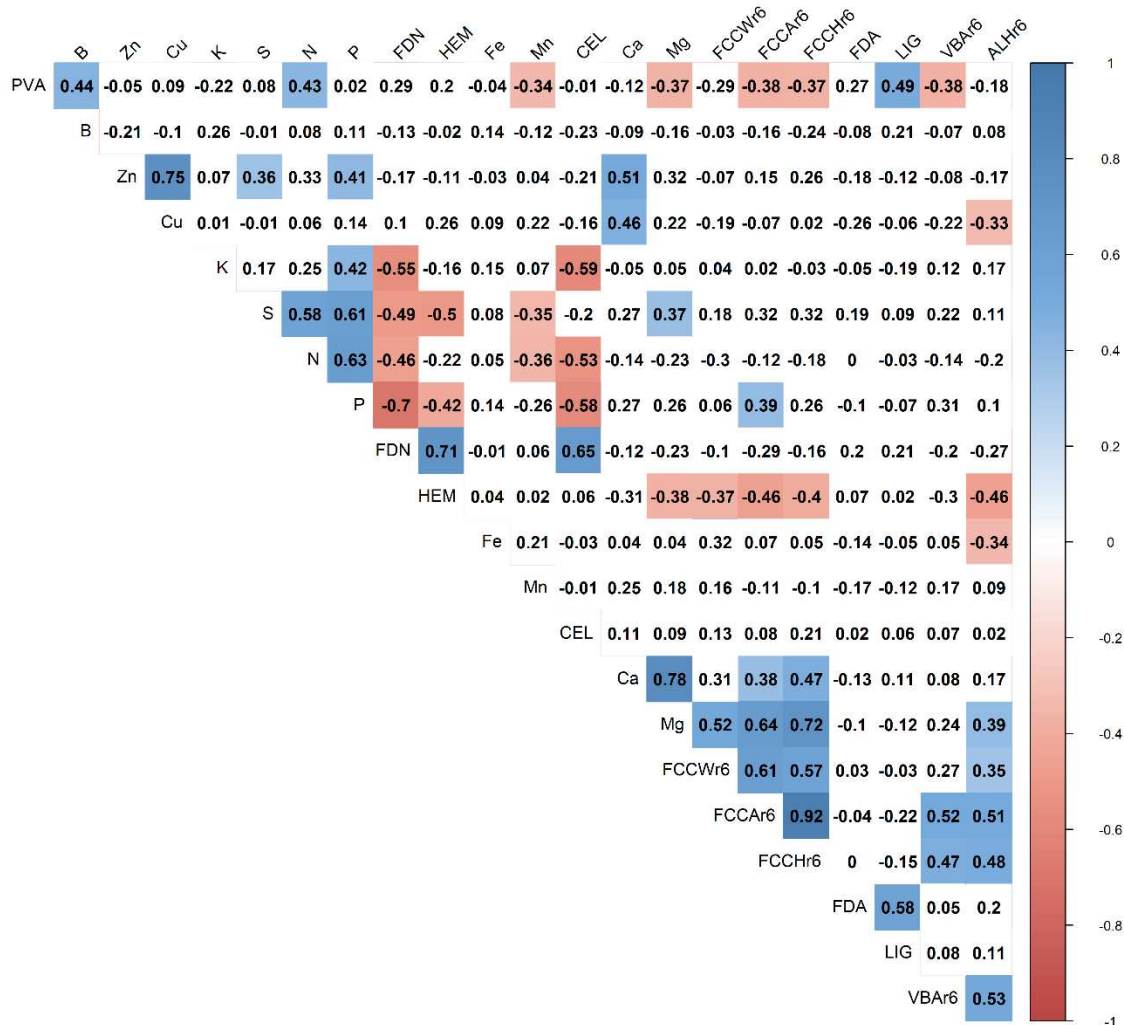
O coeficiente de correlação de Pearson (r) é uma medida de associação linear entre duas variáveis, que pode fornecer informações úteis e possibilitar um maior entendimento acerca de características pouco estudadas, como é o caso da abertura de vagens imaturas. Os coeficientes r obtidos entre as médias de PVA dos genótipos avaliados e as demais variáveis estão plotados na Figura 5. A PVA apresentou correlações positivas de nível moderado com as variáveis B ($r = 0,44$, p -valor $< 0,0067$), N ($r = 0,43$, p -valor $< 0,0092$) e LIG ($r = 0,49$, p -valor $< 0,0026$). Analisando as médias obtidas para estas variáveis na Figura 4, vemos que, assim como a PVA, estas variáveis apresentaram as maiores médias para os genótipos do grupo 1 submetidos ao tratamento estresse. Indicando que estes genótipos tendem a acumular em seus tecidos maiores teores de B, N e LIG.

Figura 4 - Médias das variáveis **A)** fibra em detergente neutro (FDN), **B)** fibra em detergente ácido (FDA), **C)** Celulose (CEL), **D)** Hemicelulose (HEM), **E)** Lignina (LIG), **F)** Cálcio (Ca), **G)** Nitrogênio (N), **H)** Fósforo (P), **I)** Potássio (K), **J)** Magnésio (Mg), **K)** Enxofre (S), **L)** Zinco (Zn), **M)** Ferro (Fe), **N)** Manganês (Mn), **O)** Cobre (Cu), **P)** Boro (B), **Q)** Área da VB em R6 (VBAr6), **R)** Área da FCC em R6 (FCCAr6), **S)** Altura da FCC em R6 (FCCHr6), **T)** Largura média da FCC em R6 (FCCWr6) e **U)** Altura da AL em R6 (ALHr6), dos dois grupos de genótipos (Grupo 1 - genótipos que abrem vagens, GDM 15C004, BMX Prisma e TMG 4190; e Grupo 2 - genótipos que não abrem vagens, P 95Y21, BMX Potência e MSOY 7639), submetidos a dois tratamentos de irrigação (controle e estresse).



VB: feixe vascular; FCC: *fiber cap cells*; AL: linha de abscisão; R6: estágio de desenvolvimento R6 (vagem verde com grãos completamente cheios).

Figura 5 - Coeficientes da análise de correlação de Pearson entre a porcentagem de vagens imaturas abertas (PVA), composição de fibras (FDN, FDA, CEL, HEM e LIG), macro e micronutrientes (N, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, P, K, S e B) e características morfoanatômicas da sutura ventral das vagens de soja (VBA, FCCA, FCCH, FCCW e ALH, no estágio R6) utilizando dados dos tratamentos estresse e controle.



Quadros com preenchimento colorido indicam correlações significativas (p -valor $< 0,05$), pelo teste t .

PVA: porcentagem de vagens imaturas abertas; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; LIG: lignina; CEL: celulose; HEM: hemicelulose; N: Nitrogênio; Ca: Cálcio; Mg: Magnésio; Fe: Ferro; Zn: Zinco; Cu: Cobre; Mn: Manganês; P: Fósforo; K: Potássio; S: Enxofre; B: Boro; VBA: área do feixe vascular; FCCA: área da *fiber cap cells*; FCCH: altura da *fiber cap cells*; FCCW: largura média da *fiber cap cells*; ALH: altura da linha de abscisão; r6: variáveis analisadas no estágio de desenvolvimento R6 (vagem verde com grãos completamente cheios).

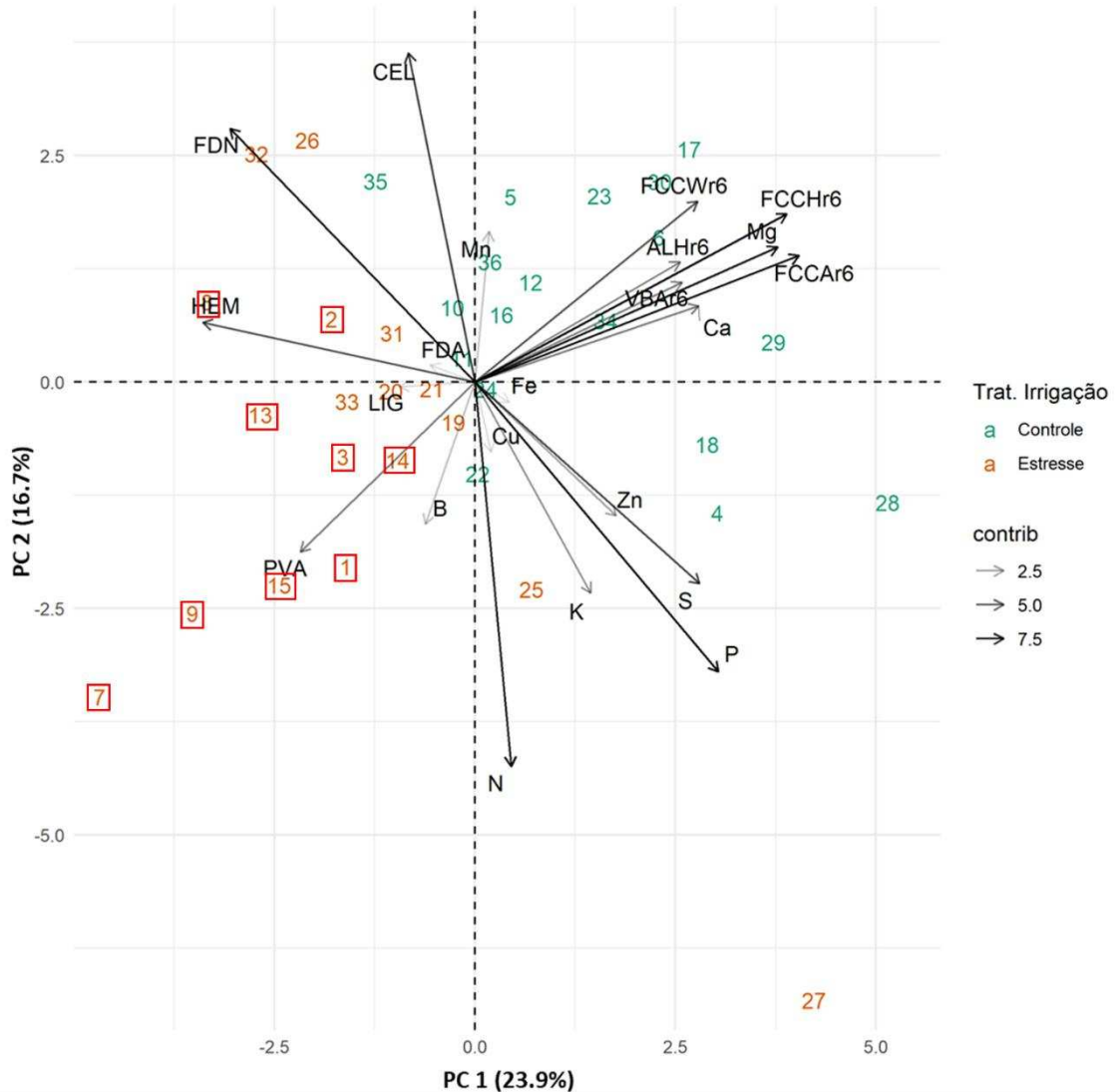
De forma oposta, a PVA correlacionou-se negativamente com as variáveis Mn ($r = -0,34$, p -valor $< 0,0408$), Mg ($r = -0,37$, p -valor $< 0,0271$), FCCAr6 ($r = -0,38$, p -valor $< 0,0224$), FCCHr6 ($r = -0,37$, p -valor $< 0,0272$) e VBAr6 ($r = -0,38$, p -valor $< 0,0235$) (Figura 5). Analisando a Figura 4, observa-se que estas variáveis apresentaram, ao contrário da PVA, altas médias para o tratamento controle. Isto pode indicar que, maiores concentrações de Mn e Mg e maiores dimensões nas estruturas FCCAr6, FCCHr6 e VBAr6 podem ser fundamentais para conferir resistência à abertura de vagens imaturas.

Outras correlações importantes para serem mencionadas ocorreram entre a HEM e as estruturas da sutura ventral das vagens FCCWr6, FCCAr6, FCCHr6 e ALHr6, com coeficientes r iguais a -0,37, -0,46, -0,40 e -0,46, respectivamente. O Ca também apresentou correlações significativas, porém positivas, com as estruturas FCCAr6 e FCCHr6, de forma que os valores de r foram 0,38 e 0,47, respectivamente. Assim como o Mg apresentou valores de r iguais a 0,52, 0,64, 0,72 e 0,39 com as variáveis FCCWr6, FCCAr6, FCCHr6 e ALHr6, respectivamente.

A análise de componentes principais (PCA) é uma técnica multivariada utilizada para analisar, classificar e reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados original e explicar a correlação entre um grande número de variáveis, sem perder muitas informações. A PCA expressa as principais informações contidas nas variáveis originais em um número menor de variáveis, chamados de componentes principais (PCs), que são combinações lineares (escores) das variáveis originais. Na PCA Biplot, além da representação gráfica dos pontos amostrais, as variáveis também aparecem como vetores. Nesse caso, o tamanho do vetor é proporcional à variância da variável e o cosseno do ângulo entre dois vetores indica a correlação entre as variáveis.

Na Figura 6 está apresentado o resultado da PCA Biplot deste trabalho, no qual os dois primeiros componentes principais explicaram 40,6% (PC1 = 23,9% e PC2 = 16,7%) da variância entre os seis genótipos cultivados nos dois sistemas de irrigação testados. A análise agrupou os dados, mostrando a relação entre as observações, nos quais as amostras similares foram localizadas próximas umas das outras. Desta forma, foi possível uma separação clara dos escores relacionados ao tratamento estresse (amostras na cor laranja na figura) daqueles do tratamento controle (amostras na cor verde na figura). A PCA Biplot deixa evidente uma forte contribuição das variáveis relacionadas à morfoanatomia da sutura ventral (VBAr6, FCCAr6, FCCHr6, FCCWr6 e ALHr6), do Mg e do Ca na direção dos escores que representam o tratamento controle. Já as variáveis PVA, B, N, FDN e HEM fornecem maiores contribuições aos escores relacionados ao tratamento estresse. Estas informações estão de acordo com o resultado obtido com a análise de correlação r de Pearson.

Figura 6 - Resultado da análise de componentes principais Biplot (PCA Biplot) apresentando os escores das observações dos seis genótipos e vetores representado a contribuição das variáveis: porcentagem de vagens abertas (PVA), composição de fibras (FDN, FDA, CEL, HEM e LIG), macro e micronutrientes (N, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, P, K, S e B) e características morfoanatômicas da sutura ventral das vagens de soja (VBA, FCCA, FCCH, FCCW e ALH), utilizando dados dos tratamentos estresse e controle.



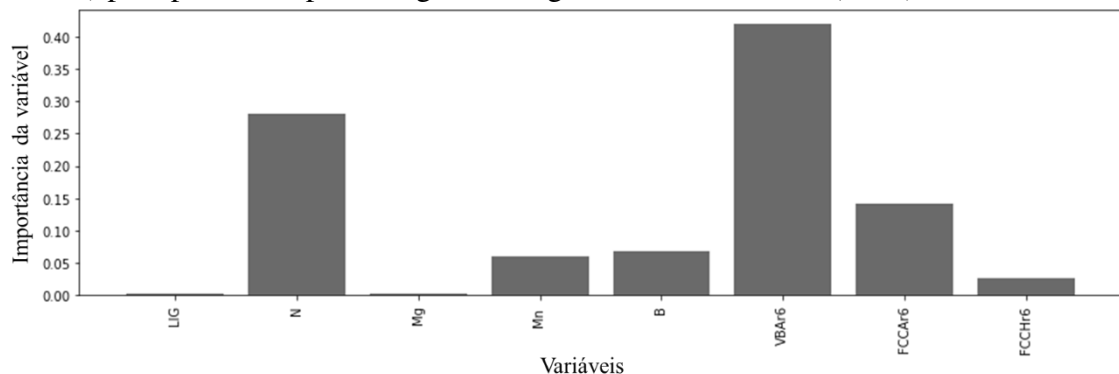
As marcações em vermelho indicam as amostras que apresentaram abertura de vagens imaturas.

PVA: porcentagem de vagens imaturas abertas; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; LIG: lignina; CEL: celulose; HEM: hemicelulose; N: Nitrogênio; Ca: Cálcio; Mg: Magnésio; Fe: Ferro; Zn: Zinco; Cu: Cobre; Mn: Manganês; P: Fósforo; K: Potássio; S: Enxofre; B: Boro; VBA: área do feixe vascular; FCCA: área da *fiber cap cells*; FCCH: altura da *fiber cap cells*; FCCW: largura média da *fiber cap cells*; ALH: altura da linha de abscisão; r6: variáveis analisadas no estágio de desenvolvimento R6 (vagem verde com grãos completamente cheios).

Os escores que representam os genótipos com abertura de vagens imaturas estão destacados com a cor vermelha na Figura 6. Os pontos se encontram próximos uns dos outros, contudo não estão dissociados das demais amostras do tratamento estresse (daqueles genótipos que não abriram vagens).

Com base na análise de correlação, utilizamos a análise de XGBoost para prever a PVA a partir das variáveis que apresentaram correlações significativas (coeficiente r com $p < 0,05$) e verificar a importância destas variáveis para a PVA (Figura 7). Ao contrário das árvores de decisão, nas quais um único modelo é treinado no conjunto de dados e os resultados são previstos a partir dele, a abordagem de *Gradient Boosting* é uma técnica mais eficaz e iterativa, pois combina vários modelos e prevê a saída do modelo final. O XGBoost cria sucessivos modelos combinando os dados entre si, de forma que o novo modelo é treinado para superar os erros do modelo anterior, até o momento no qual nenhuma melhoria possa ser feita. Para calcular a importância de cada variável, soma-se a importância desta variável obtida em cada modelo individual e, em seguida, divide-se pelo número total de modelos. A partir destes modelos, a análise XGBoost indicou as variáveis VBAr6, N e FCCAr6 como as características de maior importância para a predição da PVA, com uma acurácia de 93,33% (Figura 7).

Figura 7 - Importância das variáveis nos modelos da análise de *eXtreme Gradient Boosting* (XGBoost) para prever a porcentagem de vagens imaturas abertas (PVA).



LIG: lignina; N: Nitrogênio; Mg: Magnésio; Mn: Manganês; B: Boro; VBA: área do feixe vascular; FCCA: área da *fiber cap cells*; FCCH: altura da *fiber cap cells*; r6: variáveis analisadas no estágio de desenvolvimento R6 (vagem verde com grãos completamente cheios).

A estrutura morfoanatômica do feixe vascular (VB), da *fiber cap cells* (FCC) e da linha de abscisão (AL) da sutura ventral das vagens dos genótipos de soja estudados, nos dois sistemas de irrigação, foram avaliadas com o intuito de melhor compreender o processo da abertura das vagens. A coloração com o azul de toluidina permitiu identificar e mensurar estas estruturas, uma vez que se torna possível diferenciar polissacarídeos e lignina. Assim, as células com paredes lignificadas grossas ficam com a coloração azul céu, e as regiões com paredes onde predomina a celulose ficam azul escuro.

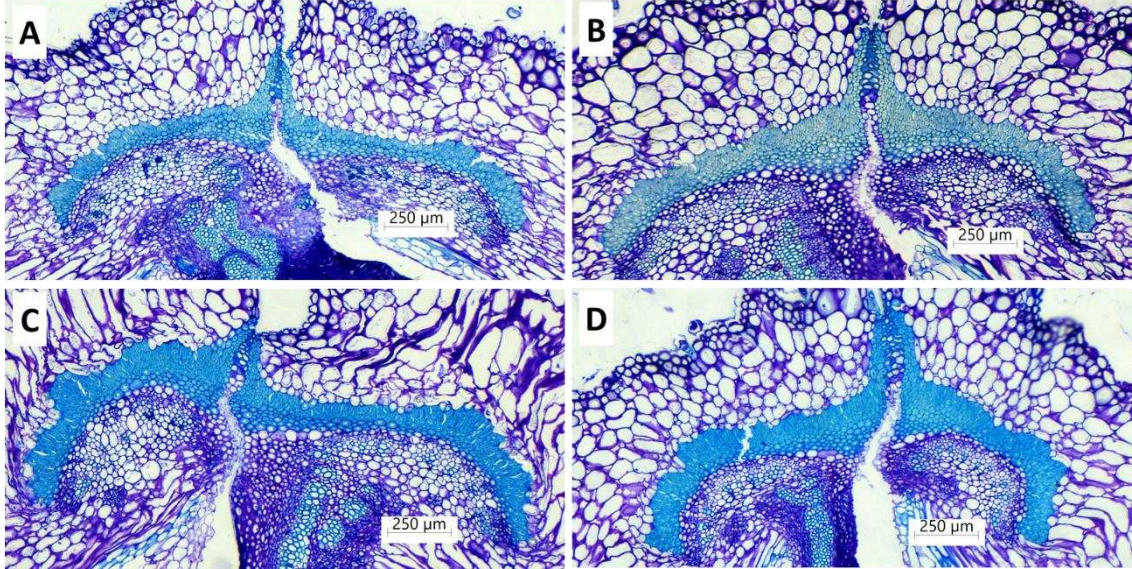
Na Figura 4Q, R, S, T e U apresentamos as médias das variáveis da região da sutura ventral VBAr6, FCCAr6, FCCHr6, FCCWr6 e ALHr6, respectivamente, do grupo 1 (genótipos que abrem vagens imaturas - GDM 15C004, BMX Prisma e TMG 4190) e do grupo 2

(genótipos que não abriram vagens imaturas - P 95Y21, BMX Potência e MSOY 7639). Estas variáveis avaliadas nos cortes histológicos mostram que em todas as variáveis a menor média foram dos genótipos do grupo 1 cultivados sob o tratamento estresse, seguido dos genótipos do grupo 2 também no tratamento estresse (exceto para VBAr6).

Estas informações deixam evidente a influência do deficit hídrico na redução das dimensões dessas estruturas e apontam um comportamento que pode ter sido crucial para que os genótipos do grupo 1 tivessem as suas vagens imaturas abertas. Os genótipos do grupo 2 também apresentaram reduções nas médias das variáveis quando submetidos ao tratamento estresse, mas não foi suficiente para que estes genótipos abrissem as vagens imaturamente. Na Figura 8 está apresentado um genótipo do grupo 1 – GDM 15C004 (Figura 8A e 8B) e um genótipo do grupo 2 – MSOY 7639 (Figura 8C e 8D), e ilustra as diferenças das estruturas da sutura ventral entre os tratamentos sob deficit hídrico e sob tratamento controle. Podemos observar, por exemplo, que para o genótipo GDM 15C004, as estruturas da VB, FCC e AL no tratamento estresse (Figura 8A) são visivelmente menores que as estruturas do genótipo sob tratamento controle (Figura 8B). Já para o genótipo MSOY 7639, as diferenças entre as estruturas no tratamento estresse (Figura 8C) e no tratamento controle (Figura 8D) já não são facilmente perceptíveis.

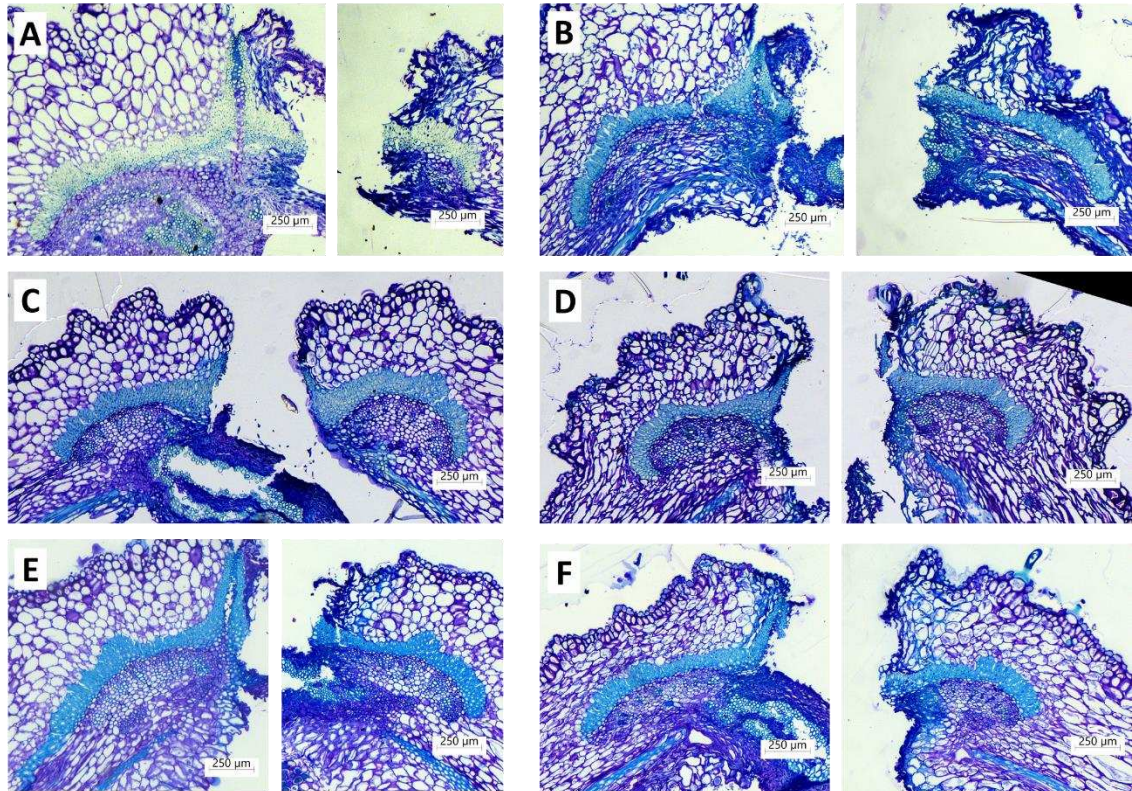
Outro ponto importante verificado nos cortes transversais das amostras com as suturas ventrais dos genótipos que abriram vagens imaturas (grupo 1 sob tratamento estresse) foi que, nem sempre o processo de abertura da vagem aconteceu sob as estruturas da FCC e AL, como geralmente ocorre no processo de deiscência das vagens. Na Figura 9 estão apresentadas algumas micrografias dos cortes de vagens abertas imaturamente. Em alguns casos (Figuras 9A, B, E e F), a ruptura da vagem ocorre sobre a área da VB, mas não necessariamente sobre a FCC e AL. Apenas no genótipo BMX Prisma (Figuras 9C e D) a abertura das vagens imaturas ocorreu na região da FCC e AL.

Figura 8 - Cortes transversais das suturas ventrais de vagens do genótipo que apresentou abertura de vagens imaturas: **A)** GDM 15C004 no tratamento estresse, **B)** GDM 15C004 no tratamento controle; e do genótipo que não apresentou abertura de vagens imaturas: **C)** MSOY 7639 no tratamento estresse e **D)** MSOY 7639 no tratamento controle.



Escala: Todas as imagens possuem a mesma escala, de 250 µm.

Figura 9 - Cortes transversais das suturas ventrais de vagens abertas imaturamente dos genótipos **A)** e **B)** GDM 15C004, **C)** e **D)** BMX Prisma, **E)** e **F)** TMG 4190, todas sob o tratamento estresse.



Escala: Todas as imagens possuem a mesma escala, de 250 µm.

Estas imagens, indicam que nos genótipos de soja suscetíveis à abertura de vagens imaturas, ocorre um enfraquecimento de toda a região da sutura ventral, se estendendo sobre a região de FCC e AL. Observado as correlações significativas da abertura das vagens imaturas com o teor de lignina e nitrogênio suportam a hipótese de que outros fatores, além dos aspectos estruturais, relacionados a FCC e AL, podem contribuir para a abertura das vagens imaturas. A ruptura dos tecidos além da região de abertura está de acordo com efeito mecânico relacionado ao aumento da tensão na região da sutura ventral das vagens. A observação de que a estrutura da parede celular está em deposição nas vagens e, portanto, com menor proporção de seus componentes estruturais da parede celular, mostra uma região propensa a um evento de ruptura. Devido ao estágio de desenvolvimento das estruturas, a ocorrência da deiscência em pontos além de FCC e AL evidencia uma região estruturalmente mais fragilizada que, também sujeita a fatores internos e ambientais, condiciona alguns genótipos à abertura das vagens imaturas.

4 DISCUSSÃO

A abertura das vagens imaturas de soja é uma característica que se manifesta sobre influência do genótipo e do déficit hídrico durante a fase de enchimento de grãos. A deiscência das vagens é um fenômeno de movimento higroscópico que ocorre como consequência da tensão nas células da camada interna do esclerênquima resultado da desidratação (ROMKAEW et al., 2008; ZHANG et al., 2018). Além disso, a composição química e/ou estrutura da casca da vagem podem favorecer o processo de abertura das vagens dos genótipos considerados suscetíveis (ESAU, 1977; TIWARI & BHATIA, 1995; BARA et al. 2013; ADEYEYE et al. 2014). No caso da deiscência, a abertura da vagem da soja após a maturação, começa no lado dorsal da vagem com mais frequência do que no lado ventral (TIWARI & BHATIA, 1995; SUZUKI et al., 2009). De acordo com Zhang et al. (2018), é necessária uma força maior para quebrar a vagem no lado ventral, devido às características morfoanatômicas desta região. Lembrando que neste trabalho, o processo de abertura de vagens imaturas ocorreu no lado da sutura ventral.

Em relação aos nutrientes avaliados neste trabalho, os teores de B e N correlacionaram-se positivamente com a PVA, indicando que um aumento nas médias destas variáveis é acompanhado pelo aumento na PVA. De forma mais contundente, o teor de N se mostrou como uma importante característica para a predição da PVA pela análise de XGBoost. Já os nutrientes Mn e Mg apresentaram correlações negativas com a PVA, apresentando maiores concentrações no tratamento controle. O teor de Ca também apresentou alta importância para as amostras do

tratamento controle pelo PCA Biplot. Ainda não está claro a forma como os nutrientes se comportaram neste experimento, inicialmente sugerimos três explicações: i) a diminuição da concentração dos nutrientes B e N, em função do maior número de vagens por planta e maiores dimensões da vagens obtidas nos tratamentos controle, possivelmente se deve ao “efeito de concentração”, que ocorre quando a quantidade de um nutriente é menor do que o aumento da massa seca do órgão em que o nutriente se encontra; ii) a planta realmente absorveu maiores concentrações de B e N sob condições de deficit hídrico e maiores concentrações dos demais nutrientes no tratamento controle; e iii) as plantas absorveram a mesma quantidade de nutrientes entre os tratamentos, porém a exportação para os grãos e, conseqüentemente, retenção destes na casca da vagem, ocorreu de forma diferenciada para os tratamentos.

O B é um micronutriente essencial para as culturas agrícolas e a sua principal função é a manutenção da estrutura e o funcionamento da parede celular, na qual forma complexos ramnogalacturona-II-B (RG-II-B) que estabilizam a rede de pectinas e regulam o tamanho dos poros da parede celular (HAJIBOLAND & BASTANI, 2012; GARCÍA-SÁNCHEZ et al., 2020). Assim como encontrado neste trabalho, Mattiello et al. (2009) verificaram que os teores de B foram maiores nas plantas cultivadas em menor disponibilidade de água. De forma que, sob irrigação ideal o crescimento das plantas foi favorecido, ocorrendo diluição dos nutrientes na matéria seca produzida, e o menor crescimento das plantas sob deficit hídrico promoveu maior concentração dos nutrientes no tecido vegetal, fato conhecido como efeito de concentração.

Nas plantas, o macronutriente N é necessário principalmente para a síntese de proteínas, tanto estruturais quanto enzimáticas. As enzimas são responsáveis pela síntese não apenas de outras proteínas, mas de todos os metabólicos intermediários, componentes da estrutura celular e armazenamento, incluindo carboidratos, gorduras e pigmentos. Esses compostos variados constituem o corpo da planta e são necessários para o crescimento de células e órgãos, incluindo a produção de componentes de rendimento (LEMAIRE et al., 1992; LAWLOR, 1995; LAWLOR et al., 2001). Cerca de 50% do N assimilado durante o enchimento das sementes é derivado da absorção pelo solo (ZAPATA et al., 1987). Essa absorção de N inorgânico do solo é menos sensível à seca do que a fixação biológica (SINCLAIR et al., 1987; PURCELL et al., 2004), o que contribui para manter a produção de sementes nestas condições. Além disso, o estresse hídrico induz mudanças bioquímicas nas plantas, como o acúmulo de diferentes solutos compatíveis que promovem o ajuste osmótico e a osmoproteção das plantas durante o estresse (HAMEED et al., 2014), incluindo compostos contendo N, como prolina, betaína e glicina (RONTEIN et al., 2002; SERRAJ & SINCLAIR, 2002; KISHOR et al., 2005; KISHOR &

SREENIVASULU, 2014). Por estas razões, o conteúdo de N pode ter apresentado maiores médias nos tratamentos sob deficit hídrico.

O macronutriente Mg está envolvido em vários processos fisiológicos e bioquímicos que afetam o crescimento e o desenvolvimento das plantas. Este nutriente é responsável pela ativação de mais enzimas do que qualquer outro nutriente mineral (EPSTEIN & BLOOM, 2004), como as ATPases, ribulose-1, 5-bifosfato (RuBP) carboxilase, RNA polimerase e proteínas quinases (MARSCHNER, 1995; SHAUL, 2002). Contudo, a função mais conhecida que o Mg exerce nas plantas é como átomo central da molécula de clorofila. Sob condições de deficit hídrico, o Mg é utilizado para melhorar a translocação de carboidratos, aumentando a exportação pelo floema, e reduz a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e o dano foto-oxidativo ao cloroplasto (WARAICH et al., 2011a; 2011b).

O Mn é um micronutriente essencial necessário em processos que incluem fotossíntese, respiração, metabolismo do N, síntese de proteínas e ativação hormonal (BURNELL, 1988; MILLALEO et al., 2010). Também está envolvido no metabolismo secundário, por exemplo, na síntese de lignina e de flavonoides (LIDON et al., 2004). Pode atuar de forma indireta para reduzir os efeitos adversos da baixa disponibilidade hídrica, aumentando a taxa fotossintética e o metabolismo do N no corpo da planta (VADEZ et al., 2000; WARAICH et al., 2011a; 2011b).

Portanto, com base no exposto, a absorção de B e N pelas plantas pode ter sido maior pelas plantas submetidas a condições de deficit hídrico, além da possibilidade de maior produção de compostos nitrogenados, que comumente ocorre em situações de estresse. Os demais nutrientes tiveram absorção reduzida sob deficit hídrico e/ou foram consumidos pela planta no desenvolvimento de mecanismos de defesa contra o estresse. Não é comum, encontrar na literatura, estudos que correlacionam a abertura de vagens (deiscência, por exemplo) e todos os nutrientes analisados aqui neste trabalho. Nem mesmo trabalhos que expliquem a forma de absorção e exportação de todos estes nutrientes em resposta à exposição das plantas ao estresse hídrico. Além disso, os processos fisiológicos que envolvem a partição direta de nutrientes para o desenvolvimento dos tecidos dos grãos, que envolvem a remobilização de nutrientes da folha, haste ou dos tecidos da vagem, são dependentes diretamente dos genótipos (BENDER et al., 2013; WIJewardana et al., 2019). Lembrando que neste trabalho, utilizamos a casca da vagem inteira, colhidas após o processo de maturação, para a realização das análises desses elementos.

Dentre os resultados obtidos, cabe ressaltar ainda a associação positiva do Ca e do Mg com algumas estruturas da sutura ventral da vagem, principalmente relacionadas à região da *fiber cap cells*. Dentre diversas funções, o Ca desempenha um papel fundamental na regulação

de processos fisiológicos que influenciam o crescimento da planta, principalmente aqueles relacionados à estrutura da membrana e função estomática, divisão celular e síntese da parede celular (MCLAUGHLIN & WIMMER, 1999; WHITE & BROADLEY, 2003). Demarty et al. (1984) mencionaram que a presença de íons Ca^{2+} aumenta a coesão das paredes celulares, além de estar envolvido na ligação de substâncias pécticas na parte interna da parede celular. Associado ao Ca, o Mg potencializa este efeito nas paredes celulares, onde a pectina fornece rigidez à matriz da parede por meio de pontes de cátions divalentes (NAKAJIMA et al., 1981; MAATHUIS, 2009). Estes elementos estão associados à deiscência das vagens, na qual as células da zona de deiscência separam-se após degradação da pectina da lamela média pela ação da endo-1,4-glucanases e endopoligalacturonase, e subsequente quebra das paredes celulares (PETERSON et al., 1996; AGRAWAL et al., 2002; CHRISTIANSEN et al., 2002; DONG & WANG, 2015). Assim, estes elementos podem ter sido fundamentais na manutenção das estruturas da sutura ventral nos tratamentos controle, auxiliando na resistência à abertura das vagens imaturas.

Dentre os diferentes componentes de fibras analisados neste trabalho (FDN, FDA, CEL, HEM e LIG), a LIG foi a única que apresentou correlação significativa com a PVA, que foi positiva. Contudo, mesmo apresentando correlação com a PVA, as médias do conteúdo de LIG não apresentaram diferenças notáveis entre os grupos de genótipos e tratamentos de irrigação avaliados. Em trabalhos correlacionando o conteúdo de lignina com o grau de deiscência das vagens, o que têm sido verificado é uma correlação negativa entre estas variáveis, de forma que, um aumento da lignificação na região da *fiber cap cells* pode estar associado a genótipos resistentes (ROMKAEW et al., 2008; DONG et al., 2014). Este processo de lignificação das vagens ocorre com o avanço do seu amadurecimento e senescência (MEAKIN & ROBERTS, 1990). Entretanto, neste trabalho observamos um processo de abertura de vagens imaturas que ocorre em R5 e R6. Temos indícios de que os tecidos ainda estão se diferenciando e uma correlação significativa com o teor de lignina. Apesar da lignina conferir maior resistência estrutural à parede celular, ainda será necessário elucidar se a lignificação diferencial de tecidos da vagem, devido ao seu estágio imaturo e ainda em desenvolvimento, venha contribuir a um balanço de forças que favorece a deiscência ao invés de fortalecer a estrutura da vagem.

O conteúdo de HEM apresentou correlações negativas com as estruturas da sutura ventral das vagens, relacionadas à *fiber cap cells* e a linha de abscisão. Além disso, a sua média foi maior para os genótipos do grupo 1 sob déficit hídrico, sugerindo que um maior conteúdo de HEM nos tecidos possa favorecer o processo de rompimento da vagem imatura. Romkaew et al. (2008) avaliaram o conteúdo de vários componentes químicos da casca das vagens (fibra

em detergente neutro, fibra em detergente ácido, lignina, hemicelulose, celulose, ácido urônico e cálcio) e utilizaram a análise de regressão múltipla para prever a porcentagem de vagens deiscentes. Estes autores concluíram que uma equação de regressão combinando hemicelulose e celulose foram significantes na predição de deiscência das vagens.

As variáveis da *fiber cap cells* (FCCAr6 e FCCHr6) e do feixe vascular (VBAr6) apresentaram correlações negativas com a PVA. Isso indica a importância dessas estruturas na resistência à abertura de vagens imaturas. Tiwari e Bhatia (1995) associaram a resistência à deiscência da vagem com características da sua anatomia. Os autores concluíram que a espessura e o comprimento do feixe vascular (VB) no lado ventral da vagem se correlacionaram negativamente com o grau de deiscência da vagem ($r = -0,716$ e $r = -0,858$, respectivamente). Dong et al. (2014) concluíram que os genótipos de soja domesticada que apresentam a região da FCC com maior número de células e paredes celulares secundárias fortemente espessadas, são resistentes à deiscência das vagens. Desta forma, estes autores mencionam que estes caracteres anatômicos representam estruturas esclerenquimáticas que podem fornecer a base estrutural de resistência à deiscência da vagem de soja e poderiam servir como critérios para a seleção de genótipos resistentes. Contudo, isso deve ser melhor avaliado no caso da abertura de vagens imaturas, uma vez que alguns componentes responsáveis pelo espessamento das paredes celulares secundárias, como a LIG e a HEM, apresentaram maiores médias exatamente para as plantas que apresentaram abertura das vagens imaturas.

Os tratamentos de irrigação, influenciaram nos padrões de absorção dos nutrientes, nos teores de fibras e nas dimensões das estruturas da sutura ventral das vagens, de forma que com a PCA Biplot, foi possível verificar uma divisão clara entre as amostras do tratamento controle e do tratamento estresse. Isso demonstra a importância da imposição do déficit hídrico para a seleção de genótipos suscetíveis à abertura de vagens imaturas.

Com base no exposto, este trabalho está de acordo com o que foi relatado por Picart e Morgan (1984), no qual concluíram que a arquitetura morfológica da planta, as estruturas anatômicas da vagem, a composição química da parede da vagem, a constituição genética da cultivar e as condições ambientais na maturidade determinam o grau de deiscência da vagem. Zhang et al. (2018) também mencionaram que a abertura da vagem (deiscência) ocorre não apenas como consequência da tensão nas células da camada interna do esclerênquima resultado da desidratação, mas também pelo enfraquecimento das estruturas das suturas dorsal e ventral.

5 CONCLUSÃO

O déficit hídrico proporciona uma redução das estruturas da sutura ventral das vagens, bem como alterações nos teores de alguns macros e micronutrientes. A ação dos macros e micronutrientes, principalmente B, Ca e Mg, que estão relacionados com a composição e estrutura da parede celular, podem ter influenciado na resistência ou suscetibilidade dos genótipos no processo de abertura das vagens. A redução das estruturas da sutura ventral ocorreu em maior magnitude nos genótipos considerados suscetíveis (GDM 15C004, BMX Prisma e TMG 4190), podendo ter causado um possível enfraquecimento dessa região favorecendo a abertura das vagens imaturas desses genótipos de soja. A importância das estruturas da sutura ventral na deiscência de vagens imaturas é evidenciada pelos resultados das análises de correlação e PCA Biplot. No tratamento controle, além das maiores dimensões das estruturas da sutura ventral, o maior conteúdo de Ca e Mg podem ter favorecido no aumento da rigidez da parede celular dessas vagens.

A análise do arranjo celular e dos tecidos na região da sutura ventral das vagens imaturas que sofreram abertura, permitiu verificarmos a extensão de uma região de fraqueza além do que é observado para vagens maduras. A variação dos resultados em experimentos independentes e as correlações positivas com a concentração de lignina e conteúdo de nitrogênio evidenciam que há influência de fatores ambientais na deiscência de vagens imaturas. Outros fatores além dos que foram avaliados podem contribuir para a deiscência de vagens imaturas de soja. A deiscência destas vagens imaturas é atribuída a um enfraquecimento da região da sutura ventral como um todo, pouco além das regiões da *fiber cap cells* e da linha abscisão isoladamente.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEYEYE, A. S.; TOGUN, A. O.; AKANBI, W. B.; ADEPOJU, I. O.; IBIRINDE, D. O. Pod shattering of different soybean varieties, *Glycine max* (L) Merrill, as affected by some growth and yield parameters. **International Journal of Agricultural Policy and Research**, v. 2, n. 1, p. 10-15, 2014.

AGRAWAL, A. P.; BASARKAR, P. W.; SALIMATH, P. M.; PATIL, S. A. Role of cell wall-degrading enzymes in pod-shattering process of soybean, *Glycine max* (L.) Merrill. **Current Science**, v. 82, p. 58-60, 2002.

AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. **Official Methods of Analysis**. 15th ed., AOAC International, Arlington, 1990.

- BARA, N.; KHARE, D.; SRIVASTAVA, A. N. Studies on the factors affecting pod shattering in soybean. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, v. 73, n. 3, p. 270-277, 2013. <<https://doi.org/10.5958/j.0975-6906.73.3.040>>
- BENDER, R. R.; HAEGELE, J. W.; RUFFO, M. L.; BELOW, F. E. Nutrient uptake, partitioning, and remobilization in modern, transgenic insect-protected maize hybrids. **Agronomy Journal**, v. 105, n. 1, p. 161-170, 2013. <<https://doi.org/10.2134/agronj2012.0352>>
- BENNETT, E. J.; ROBERTS, J. A.; WAGSTAFF, C. The role of the pod in seed development: Strategies for manipulating yield. **New Phytologist**, v. 190, p. 838-853, 2011. <<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03714.x>>
- BHOR, T. J.; CHIMOTE, V. P.; DESHMUKH, M. P. Inheritance of pod shattering in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. **Electronic Journal of Plant Breeding**, v. 5, p. 671-676, 2014.
- BURNELL, J. N. The biochemistry of manganese in plants. In: GRAHAM, R. D.; HANNAM, R. J.; UREN, N. C. (Eds) **Manganese in soils and plants**. Developments in Plant and Soil Sciences, Springer, Dordrecht., v. 33, p. 125-137, 1988. <https://doi.org/10.1007/978-94-009-2817-6_10>
- CÂMARA, G. M. S. Adubação. In: SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BORÉM, A. **Soja do plantio à colheita**. Viçosa-MG. p. 110-148, 2015.
- CARLSON, J. B.; LERSTEN, N. R. Reproductive morphology. In: BOEMA, H.R.; SPECHT, J.E. (Eds.). **Soybeans: improvement, production, and uses**. Agronomy (3rd ed), p. 59-95, 2004.
- CHRISTIANSEN, L. C.; DAL DEGAN, F.; ULVSKOV, P.; BORKHARDT, B. Examination of the dehiscence zone in soybean pods and isolation of a dehiscence-related endopolygalacturonase gene. **Plant, Cell and Environment**, v. 25, p. 479-490, 2002. <<https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00839.x>>
- DANTAS, S. A. G. **Estratégia de indução de déficit hídrico em soja e desenvolvimento de GWAS para germinação e vigor de sementes**. Tese (doutorado), Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 80 p., 2018. <<https://locus.ufv.br/handle/123456789/22007>>
- DEMARTY, M.; MORVAN, C.; THELLIER, M. Calcium and the cell wall. **Plant, Cell and Environment**, v. 7, n. 6, p. 441-448, 1984. <<https://doi.org/10.1111/j.13653040.1984.tb01434.x>>
- DONG, Y.; YANG, X.; LIU, J.; WANG, B. H.; LIU, B. L.; WANG, Y. Z. Pod shattering resistance associated with domestication is mediated by a NAC gene in soybean. **Nature Communications**, v. 5, n. 3352, p. 1-11, 2014. <<https://doi.org/10.1038/ncomms4352>>
- DONG, Y.; WANG, Y.-Z. Seed shattering: from models to crops. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. 476, p. 1-13, 2015. <<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00476>>
- DOURADO NETO, D.; NIELSEN, D. R.; HOPMANS, J. W.; REICHARDT, K.; BACCHI, O. O. S.; LOPES, P. P. **Soil water retention curve – SWRC**. Version 3.00. Piracicaba, 2001.
- EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Mineral nutrition of plants: Principles and perspectives**. 2nd ed, Sunderland, MA: Sinauer Associates. 2004.

- ESAU, K. **Anatomy of Seed Plants**. 2nd ed., John Wiley & Sons, New York, 1977.
- FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. **Stages on soybean development**. Ames: Iowa State University/Cooperative Extension Service, (Special Report, 80), p. 11, 1977.
- FUNATSUKI, H.; SUZUKI, M.; HIROSE, A.; INABA, H.; YAMADA, T.; HAJIKA, M.; KOMATSU, K.; KATAYAMA, T.; SAYAMA, T.; ISHIMOTO, M.; FUJINO, K. Molecular basis of a shattering resistance boosting global dissemination of soybean. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 50, p. 17797-17802, 2014. <<https://doi.org/10.1073/pnas.1417282111>>
- GARCÍA-SÁNCHEZ, F.; SIMÓN-GRAO, S.; MARTÍNEZ-NICOLÁS, J. J.; ALFOSEA-SIMÓN, M.; LIU, C.; CHATZISSAVVIDIS, C.; PÉREZ-PÉREZ, J. G.; CÁMARA-ZAPATA, J. M. Multiple stresses occurring with boron toxicity and deficiency in plants. **Journal of Hazardous Materials**, v. 397, p. 1-8, 2020. <<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122713>>
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGrawHill Book, 1940. 523 p.
- HAJIBOLAND, R.; BASTANI, S. Tolerance to water stress in boron deficient tea (*Camellia sinensis*) plants. **Folia Horticulturae**, v. 24, p. 41-51, 2012. <<https://doi.org/10.2478/v10245-012-0005-1>>
- HAMEED, A.; SHARMA, I.; KUMAR, A.; AZOOZ, M. M.; LONE, H. A.; AHMAD, P. Glutathione metabolism in plants under environmental stress. In: **Oxidative Damage to Plants**. Springer, USA, p. 183–200, 2014. <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-799963-0.00006-X>>
- KISHOR, K. B. P.; SANGAM, S.; AMRUTHA, R. N.; LAXMI, P. S.; NAIDU, K. R.; RAO, K. R. S. S.; RAO, S.; REDDY, K. J.; THERIAPPAN, P.; SREENIVASULU, N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, v. 88, p. 424-438, 2005.
- KISHOR, P. B. K.; SREENIVASULU, N. Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue? **Plant, Cell & Environment**, v. 37, p. 300-311, 2014. <<http://dx.doi.org/10.1111/pce.12157>>
- KRISNAWATI, A.; ADIE, M. M. Identification of soybean genotypes for pod shattering resistance associated with agronomical and morphological characters. **Biosaintifika**, v. 9, n. 2, p. 193-200, 2017a. <<https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v9i2.8716>>
- KRISNAWATI, A.; ADIE, M. M. Variability on morphological characters associated with pod shattering resistance in soybean. **Biodiversitas**, v. 18, n. 1, p. 73-77, 2017b. <<https://doi.org/10.13057/biodiv/d180111>>
- LAWLOR, D. W.; LEMAIRE, G.; GASTAL, F. Nitrogen, plant growth and crop yield. **Plant Nitrogen**, p. 343-367, 2001. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-04064-5_13>
- LAWLOR, D. W. Photosynthesis, productivity and environment. **Journal of Experimental Botany**, v. 46, p. 1449-1461, 1995. <https://doi.org/10.1093/jxb/46.special_issue.1449>
- LEMAIRE, G.; KHAITY, M.; ONILLON, B.; ALLIRAND, J. M.; CHARTIER, M.; GOSSE, G. Dynamics of accumulation and partitioning of N in leaves, stems and roots of lucerne (*Medicago sativa*) in a dense canopy. **Annals of Botany**, v. 70, p. 429-435, 1992. <<https://userweb.weihenstephan.de/lattanzi/Lit/Lemaire%20et%20al%201992.pdf>>

- LIDON, F. C.; BARREIRO, M. G.; RAMALHO, J. C. Manganese accumulation in rice: implications for photosynthetic functioning. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, p. 1235-1244, 2004. <<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.02.003>>
- MAATHUIS, F. J. M. Physiological functions of mineral macronutrients. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, p. 250-258, 2009. <<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.04.003>>
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2.ed., Piracicaba: Potafos, 319 p., 1997.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**, 2nd ed, San Diego, CA: Academic Press, 1995.
- MATTIELLO, E. M.; RUIZ, H. A.; SILVA, I. R.; BARROS, N. F.; NEVES, J. C. L.; BEHLING, M. Transporte de boro no solo e sua absorção por eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 1281-1290, 2009. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832009000500021>>
- MCLAUGHLIN, S. B.; WIMMER, R. Transley Review N°. 104 - Calcium physiology terrestrial ecosystem processes. **New Phytologist**, v. 142, p. 373-417, 1999. <<http://www.jstor.org/stable/2588424>>
- MEAKIN, P. J.; ROBERTS, J. A. Dehiscence of fruit in oilseed rape (*Brassica napus* L.). **Journal of Experimental Botany**, v. 41, n. 8, p. 995-1002, 1990. <<https://doi.org/10.1093/jxb/41.8.995>>
- MILLALEO, R.; REYES-DÍAZ, M.; IVANOV, A.; MORA, M.; ALBERDI, M. Manganese as essential and toxic element for plants: transport, accumulation and resistance mechanism. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 10, p. 470-481, 2010. <<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162010000200008>>
- NAKAJIMA, N.; MORIKAWA, H.; IGARASHI, S.; SENDA, M. Differential effect of calcium and magnesium on mechanical properties of pea stem cell walls. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, p. 1305-1315, 1981. <<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076283>>
- O'BRIEN, T.; MCCULLY, M. E. **The study of plant structure: principles and selected methods**. Melbourne: Temarcarphi Ltda, 358 p., 1981.
- PALHARINI, W. G. **Influência do estresse hídrico sobre caracteres agrônômicos, fisiológicos e abertura de vagens imaturas em soja**. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 44 p., 2016. <<https://locus.ufv.br/handle/123456789/9284>>
- PATHARKAR, O. R.; WALKER, J. C. Connections between abscission, dehiscence, pathogen defense, drought tolerance, and senescence. **Plant Science**, v. 284, p. 25-29, 2019. <<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.03.016>>
- PETERSON, M.; SANDER, L.; CHILD, R. D.; VAN ONCKELEN, H. A.; ULVSKOV, P.; BORKHARDT, B. Isolation and characterization of a pod dehiscence zone-specific polygalacturonase from *Brassica napus*. **Plant Molecular Biology**, v. 31, p. 517-527, 1996. <<https://doi.org/10.1007/bf00042225>>
- PICART, J. A.; MORGAN, D. G. Pod development in relation to pod shattering. **Aspects of Applied Biology**, v. 6, p. 101-110, 1984.

- PURCELL, L. C.; SERRAJ, R.; SINCLAIR, T. R.; DE, A. Soybean N₂ fixation estimates, ureide concentration, and yield responses to drought. **Crop Science**, v. 44, n. 2, p. 484-492, 2004. <<https://doi.org/10.2135/cropsci2004.4840>>
- RICHARDS, L. A. Physical conditions of water in soil. In: BLACK, C. A., EVANS, D. D.; WHITE, J. L.; CLARK, F. E. (ed.). **Methods of soil analysis - physical and mineralogical properties, including statistics of measurements and sampling**. Madison, ASASSSA, p.128-152, 1965. <<https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.1.c8>>
- ROMKAEW, J.; NAGAYA, Y.; GOTO, M.; SUZUKI, K.; UMEZAKI, T. Pod dehiscence in relation to chemical components of pod shell in soybean. **Plant Production Science**, v. 11, n. 3, p. 278-282, 2008. <<https://doi.org/10.1626/pp.11.278>>
- RONTEIN, D.; BASSET, G.; HANSON, A. D. Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants. **Metabolic Engineering**, v. 4, p. 49-56, 2002. <<https://doi.org/10.1006/mben.2001.0208>>
- SEDIYAMA, T.; SILVA, F. L.; BORÉM, A. **Soja do plantio à colheita**. Viçosa-MG, 333 p., 2015.
- SERRAJ, R.; SINCLAIR, T. R. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? **Plant, Cell & Environment**, v. 25, 333-341, 2002. <<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00754.x>>
- SHAUL, O. Magnesium transport and function in plants: the tip of the iceberg. **Biometals**, v. 15, p. 309-323, 2002. <<https://doi.org/10.1023/a:1016091118585>>
- SINCLAIR, T. R.; MUCHOW, R. C.; BENNETT, J. M.; HAMMOND, L. C. Relative sensitivity of nitrogen and biomass accumulation to drought in field-grown soybean. **Agronomy Journal**, v. 79, p. 986-991, 1987. <<https://doi.org/10.2134/agronj1987.00021962007900060007x>>
- SUZUKI, M.; FUJINO, K.; FUNATSUKI, H. A major soybean QTL, qPDH1, controls pod dehiscence without marked morphological change. **Plant Production Science**, v. 12, p. 217-223, 2009. <<https://doi.org/10.1626/pp.12.217>>
- TIWARI, S. P.; BHATIA, V. S. Characters of pod anatomy associated with resistance to pod-shattering in soybean. **Annals of Botany**, v. 76, n. 5, p. 483-485, 1995. <<https://doi.org/10.1006/anbo.1995.1123>>
- TU, B.; LIU, C.; WANG, X.; LI, Y.; ZHANG, Q.; LIU, X.; HERBERT, S. J. Greater anatomical differences of pod ventral suture in shatter-susceptible and shatter resistant soybean cultivars. **Crop Science**, v. 59, p. 2784-2793, 2019. <<https://doi.org/10.2135/cropsci2019.04.0231>>
- VADEZ, V.; SINCLAIR, T. R.; SERRAJ, R.; PURCELL, L. C. Manganese application alleviates the water deficit-induced decline of N₂ fixation. **Plant, Cell & Environment**, v. 23, p. 497-505, 2000. <<https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2000.00562.x>>
- VAN GENUCHTEN, M. T. A closed-form equation for predicting the hydraulic conductivity of unsaturated soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 44, p. 892-898, 1980. <<https://doi.org/10.2136/sssaj1980.03615995004400050002x>>
- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B. **Analysis of Forages and Fibrous Foods**. Cornell University Press, Ithaca, 1985.

VAN SOEST, P. J.; WINE, R. H. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 50, p. 50-55, 1967. <https://catalogo.latu.org.uy/opac_css/doc_num.php?explnum_id=1418>

WARAICH, E. A.; AHMAD, R.; ASHRAF, M. Y.; SAIFULLAH; AHMAD, M. Improving agricultural water use efficiency by nutrient management in crop plants, **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science**, v. 61, n. 4, p. 291-304, 2011a. <<https://doi.org/10.1080/09064710.2010.491954>>

WARAICH, E. A.; AHMAD, R.; SAIFULLAH; ASHRAF, M. Y.; EHSANULLAH. Role of mineral nutrition in alleviation of drought stress in plants. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 6, p. 764-777, 2011b. <http://www.cropj.com/waraich_5_6_2011_764_777.pdf>

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R. Calcium in plants. **Annals of Botany**, v. 92, n. 4, p. 487-511, 2003. <<https://doi.org/10.1093/aob/mcg164>>

WIJewardana, C.; REDDY, K. R.; BELLALOU, N. Soybean seed physiology, quality, and chemical composition under soil moisture stress. **Food Chemistry**, v. 278, p. 92-100, 2019. <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.035>>

ZAPATA, F.; DANSO, S. K. A.; HARDARSON, G.; FRIED, M. Time course of nitrogen-fixation in field-grown soybean using nitrogen-15 methodology. **Agronomy Journal**, v. 79, p. 172–176, 1987. <<https://doi.org/10.2134/agronj1987.00021962007900010035x>>

ZHANG, L.; BOAHEN, L. Evaluation of critical shattering time of early maturity soybeans under early soybean production system. **Agriculture and Biology Journal of North America**, v. 1, n. 4, p. 440-447, 2010. <<https://doi.org/10.5251/abjna.2010.1.4.440.447>>

ZHANG, Q.; TU, B.; LIU, C.; LIU, X. Pod anatomy, morphology and dehiscing forces in pod dehiscence of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. **Flora**, v. 248, p. 48-53, 2018. <<https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.08.014>>

ZHANG, J.; SINGH, A. K. Genetic control and geo-climate adaptation of pod dehiscence provide novel insights into soybean domestication. **G3 (Bethesda)**, v. 10, n. 2, p. 545-554, 2020. <<https://doi.org/10.1534/g3.119.400876>>

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela Suplementar 1 - Médias dos caracteres agrônômicos obtidos para os grupos 1 e 2 de genótipos, nos dois tratamentos de irrigação (estresse e controle).

Variáveis	Genótipos - Grupo 1		Genótipos - Grupo 2	
	Tratamento Estresse	Tratamento Controle	Tratamento Estresse	Tratamento Controle
Ciclo reprodutivo (dias)	63	69	76	73
Ciclo total da planta (dias)	128	131	127	124
Altura da planta (centímetros)	139	131	130	125
Número de nós	14	15	14	15
Número de hastes laterais	7	7	6	6
Diâmetro do hipocótilo (milímetros)	6	7	7	7
Número de vagens	59	66	47	63
Número de grãos	125	141	103	133
Produtividade de grãos (gramas.planta ⁻¹)	16,44	18,68	14,38	18,08
Comprimento da vagem (milímetros)	39,71	42,88	44,25	45,38
Largura da vagem (milímetros)	8,29	9,05	9,50	9,42
Espessura da vagem (milímetros)	6,32	6,38	5,98	5,88
Volume médio dos grãos (milímetros ³)	811,73	903,88	959,13	882,57

Grupo 1 - genótipos que abriram vagens, GDM 15C004, BMX Prisma e TMG 4190; e

Grupo 2 - genótipos que não abriram vagens, P 95Y21, BMX Potência e MSOY 7639.

CAPÍTULO 3 – ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA E GENES CANDIDATOS PARA RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE SOJA À ABERTURA DE VAGENS IMATURAS

RESUMO

Os estudos relacionados à abertura de vagens imaturas ainda são incipientes. A expressão desta característica em alguns genótipos de soja, principalmente sob condições de déficit hídrico, pode se tornar um limitante de produtividade em cenários futuros e, portanto, precisa ser melhor investigada. Neste sentido, objetivou-se com este trabalho identificar regiões genômicas (*Quantitative Trait Loci* - QTLs) relacionados à abertura de vagens imaturas de genótipos de soja submetidas ao déficit hídrico, por meio da utilização de marcadores SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) utilizando estudo de associação genômica ampla (GWAS). Para isto, dois experimentos foram desenvolvidos em casa de vegetação em duas épocas. As plantas foram cultivadas em delineamento casualizado com três blocos, utilizando 99 genótipos de soja sob dois tratamentos de irrigação, chamados de tratamento controle (oferta de água próximo à capacidade de campo, -33 kPa) e tratamento estresse (oferta de água próximo ao ponto de murcha permanente, -900 kPa). O déficit hídrico no tratamento estresse foi imposto do estágio R3 ao R6 (formação das vagens ao enchimento completo dos grãos) e no tratamento controle a irrigação adequada foi mantida durante todo o ciclo da cultura. A porcentagem de vagens imaturas abertas nos tratamentos estresse foram utilizados para a análise de GWAS. No experimento 1, 11 SNPs foram identificados em 8 cromossomos diferentes e no experimento 2 foi identificado apenas um SNP. Os principais genes e proteínas relacionados aos marcadores identificados estão ligados às respostas das plantas ao estresse e à atividade da beta-glucosidase.

Palavras-chave: Déficit hídrico. Abertura de vagens verdes. GWAS. Marcadores SNPs.

1 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma das leguminosas de maior importância econômica no mundo, podendo ser utilizada na forma de grãos, de farelo para alimentação animal e de óleo para consumo doméstico e produção de biodiesel. O melhoramento genético tem sido fundamental para promover o incremento da produtividade da cultura da soja a cada safra, aumentando a capacidade produtiva, a resistência às pragas e doenças (GARCIA et al., 2008; RAMALINGAM et al., 2020), a adaptação dos materiais às variações ambientais (TRAN & MOCHIDA, 2010; SONG et al., 2016), dentre outros aspectos (KIIHL et al., 1983; FUNATSUKI et al., 2014; ZHANG & SINGH, 2020).

Recentemente no Brasil, uma anomalia tem sido relatada em cultivos de soja, no qual ocorre uma abertura das vagens imaturas. Esse processo de abertura ocorre quando as vagens ainda estão verdes e os grãos em estágio de enchimento, acarretando perdas na produtividade e na qualidade dos grãos formados. Em trabalhos prévios foi identificado que a abertura de vagens imaturas é dependente do genótipo utilizado, além de ser potencializada pela ocorrência de deficit hídrico (PALHARINI, 2016). Com o advento das mudanças climáticas, casos de indisponibilidade hídrica tem sido cada vez mais frequente, de forma que essa anomalia pode se tornar recorrente e gerar grandes prejuízos aos produtores.

O tipo de abertura de vagens mais conhecido e investigado é a deiscência, que é o processo de abertura das vagens que ocorre após a maturação da planta. Diversos estudos apontam que a deiscência ocorre devido às tensões nas paredes das vagens, mediadas pelas propriedades mecânicas dos tecidos lignificados e não lignificados e por meio das alterações no turgor associado à maturação dos frutos (BALLESTER & FERRÁNDIZ, 2017; PATHARKAR & WALKER, 2019). Além disso, alguns genes foram identificados controlando a deiscência de vagens por meio de mecanismos distintos (FUNATSUKI et al., 2014; DONG et al., 2014), bem como *quantitative trait loci* (QTLs) associados por meio de estudos de mapeamento genético, implicando uma complexa rede reguladora genética que controla a deiscência em soja (SoyBase, <https://soybase.org/>). Contudo, não existem evidências de que a abertura de vagens imaturas tenha as mesmas causas da deiscência em soja.

Partindo deste ponto, abordagens envolvendo estudos genômicos, como o *Genome-Wide Association Studies* (GWAS), em que as variações genéticas existentes são examinadas em diferentes indivíduos para encontrar quais dessas variantes estão associadas ao fenótipo em particular podem trazer explicações mais detalhadas da abertura de vagens imaturas. Assim como a análise de QTLs tem sido fundamental na identificação de regiões genéticas

responsáveis pelas variações de características quantitativas (ABIOLA et al., 2003; MILES & WAYNE, 2008; PATERSON, 1995). Principalmente, quando levamos em consideração que os genes relacionados às respostas ao estresse hídrico em plantas geralmente apresentam baixa herdabilidade (DUBEY et al, 2019).

Decifrar a base genética da abertura de vagens imaturas fornecerá aos melhoristas informações importantes para manipular essa característica e identificar estratégias de seleção com o objetivo de reduzir as perdas. Neste sentido, conhecer regiões genômicas associadas à característica de interesse contribuirão para o entendimento dessa base genética. A seleção de genótipos que sustentam a indeiscência de vagens imaturas quando submetidos a situações adversas, como o deficit hídrico, trará uma segurança às empresas de melhoramento e aos produtores da cultura da soja.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi identificar regiões genômicas relacionadas à abertura de vagens imaturas de genótipos de soja submetidos ao deficit hídrico, por meio de associação genômica ampla (GWAS).

2 MATERIAL E MÉTODOS

Condução dos experimentos e Fenotipagem

Foram conduzidos dois experimentos em casa de vegetação na cidade de Viçosa - Minas Gerais/Brasil, latitude 20°45'17" Sul, longitude 42°52'57" Oeste e 649 metros de altitude, em duas épocas distintas. O experimento 1 foi realizado no período de janeiro a maio de 2018, com temperatura e umidade média do ar de 29,2°C e 56,8%, respectivamente. O experimento 2, ocorreu de setembro de 2018 a fevereiro de 2019, com temperatura e umidade média do ar de 31,2°C e 55,4%, respectivamente.

O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados em esquema fatorial 99 x 2, sendo 99 genótipos de soja e 2 regimes de irrigação, avaliados em 3 blocos. Os regimes de irrigação foram chamados neste trabalho de “tratamento estresse” (com deficit hídrico) e “tratamento controle” (sem deficit hídrico). Os genótipos avaliados são oriundos de diferentes empresas de melhoramento genético de soja e possuem uma ampla variação quanto às suas características. Apresentando diferentes eventos transgênicos (convencional, Roundup Ready e Intacta RR2BT), tipos de crescimento (determinado, semi-determinado e indeterminado), grupos de maturação (do grupo cinco ao nove), dentre outras características morfoagronômicas (Tabela Suplementar 1).

A parcela experimental foi composta de uma planta cultivada em um vaso com volume de sete litros, contendo substrato preparado com uma mistura de solo, areia e esterco animal, na proporção de 3:1:2. Nos dois experimentos o substrato foi classificado com textura franco-argilo-arenosa, e sua correção mineral foi realizada com base em análise química, utilizando valores de extração da cultura para produção de 3000 kg ha⁻¹ (CÂMARA, 2015). Os demais tratamentos culturais foram realizados conforme o recomendado para a cultura da soja (SEDIYAMA et al., 2015).

A metodologia utilizada para definir os regimes de irrigação e impor o déficit hídrico às plantas de soja em casa de vegetação foi adaptada pelo Programa de Melhoramento da Soja da Universidade Federal de Viçosa, como descrito por Dantas (2018). No tratamento controle o solo foi mantido próximo a capacidade de campo (CC), em um potencial hídrico de -33 Kilopascal (kPa), durante todo o ciclo da cultura. Já no tratamento estresse, o potencial hídrico utilizado foi de -900 kPa, mantendo o solo próximo a 50% da CC, entre os estádios reprodutivos R3 (início da formação de vagens) e R6 (enchimento de grãos) (conforme escala proposta por Fehr & Caviness, 1977). A umidade do solo em cada tratamento foi mantida por meio de pesagens diárias dos vasos, com a finalidade de calcular a lâmina de água. Para isso, vasos selecionados por amostragem dentro de cada bloco, foram pesados com o auxílio de balança digital (modelo Prix 3 Fit 15kg - Toledo do Brasil). O potencial hídrico foliar foi monitorado durante a condução dos experimentos, para garantir a imposição do déficit hídrico. As avaliações ocorreram no período da antemanhã, em folhas completamente expandidas do segundo trifólio, com auxílio de bomba de pressão do tipo Scholander (SCHOLANDER et al., 1965).

A porcentagem de vagens imaturas abertas (PVA) por planta foi avaliada no estágio de desenvolvimento R6 (vagens verdes com grãos cheios) com base no número total de vagens, conforme Figura 1.

Figura 1 - Exemplos de vagens imaturas de soja abertas.



Análise dos dados fenotípicos

Após a obtenção dos dados de porcentagem de vagens imaturas abertas (PVA), procedeu-se com a análise de variância (ANOVA), por meio do software Genes (CRUZ, 2013). Os dados foram analisados inicialmente sob os fatores “genótipo” (99 genótipos), “tratamentos de irrigação” (estresse e controle) e “épocas de cultivo” (dois experimentos em épocas distintas). Após a identificação de variabilidade entre as “épocas de cultivo” e entre os “tratamentos de irrigação”, optou-se pela análise dos dois experimentos separadamente e considerando apenas dos dados do tratamento estresse.

Os dados fenotípicos de cada experimento foram corrigidos a partir de modelos lineares mistos, via REML/BLUP, separadamente. Este modelo considera o delineamento em blocos ao acaso, testando genótipos não aparentados e um único indivíduo por parcela. O nosso indivíduo foi considerado o valor de porcentagem de vagens imaturas abertas por planta, uma vez que se trata de cultivares. O modelo que representa esta análise foi:

$$y = \mu + Xr + Zg + e$$

onde “y” é o vetor de dados fenotípicos, “ μ ” é a média geral, “r” é o vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos), “g” é o vetor dos efeitos do i-ésimo genótipo (assumidos como aleatórios) e “e” é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios) que segue $N(0, \sigma_e^2)$. As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos. Esses dados foram utilizados para realizar a associação posteriormente.

Genotipagem com marcadores SNP

Os dados da genotipagem dos genótipos foram gentilmente cedidos pela empresa GDM Seeds. No qual, 81 genótipos foram genotipados por sequenciamento pelo Institute for Genome Diversity - IGD da Cornell University (Ithaca, NY) e 18 genótipos pelo Biotechnology Center da University of Wisconsin-Madison (Wisconsin, USA).

Estrutura de população

Para evitar a identificação de associações falso-positivas entre os dados fenotípicos e moleculares, foi realizada análise prévia de estrutura de populações. Assim, a análise da estrutura genética da população (matriz Q), foi realizada por meio da Análise de Componentes Principais (PCA) da matriz de marcadores moleculares. A matriz de parentesco (matriz *kinship*), que foi obtida por meio do software Tassel (BRADBURY et al., 2007), utilizando os próprios marcadores.

Além disso, para validar o modelo utilizado, foi plotado o gráfico Quantil-Quantil (Q-Q Plot) que avalia a subestrutura da população, podendo indicar a ocorrência de associações verdadeiras entre os SNPs significativos e a característica.

Análise de associação genômica

Antes de submeter os dados à GWAS, avaliou-se a qualidade dos dados obtidos pela genotipagem. Foram utilizados apenas marcadores SNPs com menos de 10% de dados perdidos (*call rate* igual a 90%) e eliminados os SNPs que apresentaram alelos menos frequentes (*minor allele frequency* - MAF) com frequência menor do que 5% ou os SNPs monomórficos. Para a análise de associação, foi utilizado um painel de marcadores SNPs com 4070 marcadores informativos para o conjunto de genótipos, nos dois experimentos.

A análise de associação foi realizada pelo método de Modelos Lineares Mistos Comprimidos, utilizando-se o software R (R CORE TEAM, 2016), e o modelo:

$$y = \mu + Wm + Zu + e$$

onde “y” é o vetor dos dados fenotípicos corrigidos; “m” é o efeito do marcador e estrutura de população (efeito fixo); “u” é o efeito poligênico considerando a variância aditiva e a matriz de parentesco (Q) (efeito aleatório); “W” e “Z” são os vetores de incidência para o efeito de marcador e efeito poligênico, respectivamente; e “e” é o vetor de efeitos residuais aleatório.

Marcadores com valores de probabilidade $p < 0,001$ foram considerados significativos na análise de associação genômica. Para facilitar a apresentação dos valores de probabilidade, estes foram expressos por $-\log_{10}(p\text{-valor})$, em que valores de $-\log_{10}(p\text{-valor})$ maiores ou iguais a 3 foram considerados significativos.

Para análise de desequilíbrio de ligação (LD) usamos a medida de r^2 calculada com o programa Haploview (BARRETT et al., 2005), por meio do estimador:

$$r^2 = (D')^2 / (p_A q_a p_B q_b)$$

em que “D’” é uma medida de desequilíbrio de ligação e “pA”, “qa”, “pB” e “qb” são as frequências dos alelos que são comparados. A raiz quadrada de r^2 pode ser definida como o coeficiente de correlação entre os alelos correspondentes (HARTL & CLARK, 1997).

Genes candidatos

Ao final da análise, utilizou-se o banco de dados National Center for Biotechnology Information - NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) para a identificação e filtragem dos genes, e suas respectivas proteínas sintetizadas, que podem estar relacionados com a reação de resistência da soja à abertura de vagens imaturas. Os genes candidatos foram buscados em um intervalo de dois mil pares de bases antes e depois da posição de cada SNP significativo.

3 RESULTADOS

A análise de variância apontou diferenças significativas na interação “Genótipo x Tratamento de Irrigação x Época de cultivo”, indicando que existe variabilidade quanto à porcentagem de abertura de vagens imaturas abertas (PVA) com base nesses fatores (Tabela 1). De forma geral, nos dois experimentos, o tratamento de irrigação com deficit hídrico (tratamento estresse) favoreceu a abertura de vagens imaturas em alguns genótipos nos dois experimentos conduzidos. No tratamento controle, com boa disponibilidade hídrica, poucos genótipos expressaram a característica e em quantidade muito pequena de vagens. Houve diferença nos resultados encontrados para PVA entre os dois experimentos conduzidos, por isso optou-se pela análise GWAS separadamente para estas épocas de cultivo.

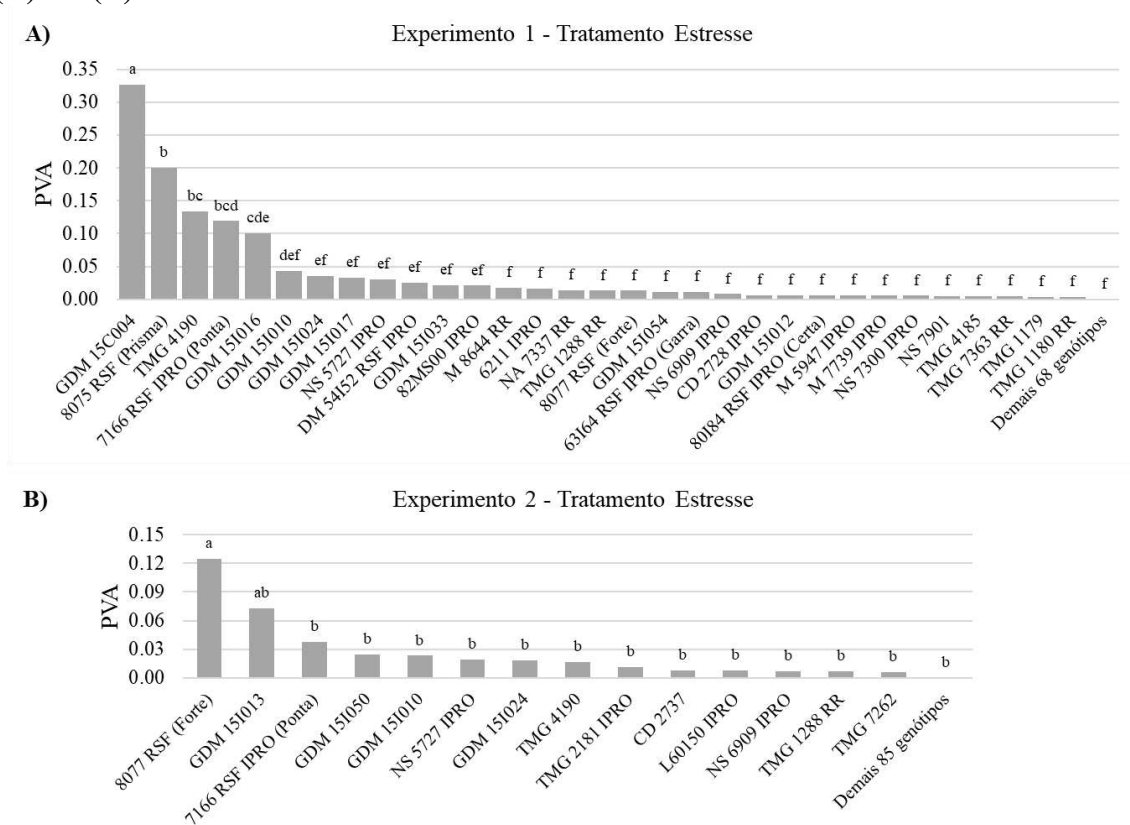
Na Figura 2, mostramos a comparação das médias de PVA obtidas para o tratamento estresse nos dois experimentos, uma vez que no tratamento controle não houve diferenças significativas pelo teste de médias realizado (Tukey, $p < 0,05$). Com base nessas análises, conclui-se também pela utilização apenas dos dados obtidos para o tratamento estresse, pois este apresentou maior variabilidade entre os genótipos.

Tabela 1 - Resumo da análise de variância da porcentagem de vagens imaturas abertas (PVA) dos genótipos de soja nos dois tratamentos de irrigação (estresse e controle), nas duas épocas de plantio (experimentos 1 e 2).

Fontes de variação	GL	QM	p-valor
Época de cultivo (ANO)	1	0,00714 **	0,0003
Trat. de Irrigação (IRRIG)	1	0,01689 **	0,0000
Genótipos (GEN)	98	0,00175 **	0,0000
ANO x IRRIG	1	0,00427	0,0055
ANO x GEN	98	0,00154 **	0,0000
IRRIG x GEN	98	0,00157 **	0,0000
ANO x IRRIG x GEN	98	0,00146 **	0,0000

** : significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F; QM: quadrado médio; e GL: grau de liberdade.

Figura 2 - Comparação das médias de porcentagem de vagens imaturas abertas (PVA) observados para os genótipos de soja sob deficit hídrico (tratamento estresse) nos experimentos 1 (A) e 2 (B).



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Os genótipos que não apresentaram abertura de vagens imaturas ($PVA = 0$) e, portanto, não diferiram entre si foram omitidos nos gráficos.

No experimento 1, identificamos 31 genótipos com abertura de vagens imaturas, sendo que o genótipo GDM15C004 apresentou a maior PVA, que foi de 32,6% (Figura 2A). Por outro lado, no experimento 2, apenas 14 genótipos apresentaram abertura de vagens imaturas, sendo o maior valor de PVA igual a 12,5%, para o genótipo 8077 RSF (Forte) (Figura 2B). Os

genótipos 8077 RSF (Forte), 7166 RSF Ipro (Ponta), GDM 15I010, NS 5727, GDM 15I024, TMG 4190 e TMG 1288 RR foram os materiais que abriram vagens imaturas no tratamento estresse nos dois experimentos.

Após a confirmação da variabilidade dos genótipos quanto à PVA, a análise de GWAS foi realizada. Inicialmente, executamos o controle de qualidade dos SNPs impostos ($MAF > 0,05$ e $call\ rate < 0,10$), resultando em 4070 SNPs aptos. A distribuição desses SNPs foi em média 203,5 marcadores por cromossomo, com um mínimo de 79 marcadores no cromossomo 20 e o máximo de 346 no cromossomo 18, o mais bem representado. As associações foram consideradas significativas quando os valores de p foram $< 0,001$, equivalente a $-\log_{10}(p) \geq 3,0$.

O gráfico Q-Q plot foi utilizado para verificar a estrutura da população e a existência de associação dos SNPs significativos com a característica estudada. Assim, foram plotados os valores de $-\log_{10}(p)$ obtidos na análise *versus* os valores esperados sob a hipótese de nulidade (não associação com a característica) (Figuras 3A e B). No Q-Q plot a ocorrência de associações verdadeiras entre os SNPs significativos e a característica, normalmente evidenciados quando os valores observados (representados no gráfico pelos pontos na cor azul) se distanciam dos valores esperados (representados no gráfico pela linha na cor vermelha) com o aumento do nível de significância. Contudo, se esse desvio ocorre de forma generalizada pode significar uma provável inflação do teste, que pode ser ocasionado por várias razões, como a falta de ajuste dos dados ou até mesmo estratificação populacional. Observa-se que o modelo está ajustado aos dados e inexistente uma subestrutura da população entre as amostras nos gráficos plotados, isso porque os valores observados encontram-se próximos a diagonal, distribuídos de modo uniforme.

Como resultado da GWAS, foram detectados 11 SNPs significativos em oito cromossomos diferentes no experimento 1 (Tabela 2 e Figura 4A). Destes 11 SNPs, dois estão localizados em cada um dos cromossomos 3, 4 e 17, e um SNP em cada um dos cromossomos 1, 2, 8, 12 e 20. No experimento 2, apenas um SNP foi significativo no cromossomo 3 (Tabela 2 e Figura 4B). Não houve coincidência de marcadores entre as duas épocas de cultivo. A heterogeneidade de marcadores entre os experimentos pode ser explicada devido ao caráter quantitativo da característica, facilmente influenciada pelo ambiente.

Figura 3 - Gráfico de quantil-quantil (Q-Q plot) de $-\log_{10}(p)$ estimado a partir da análise de associação da abertura de vagens imaturas de soja no (A) experimento 1 e no (B) experimento 2.

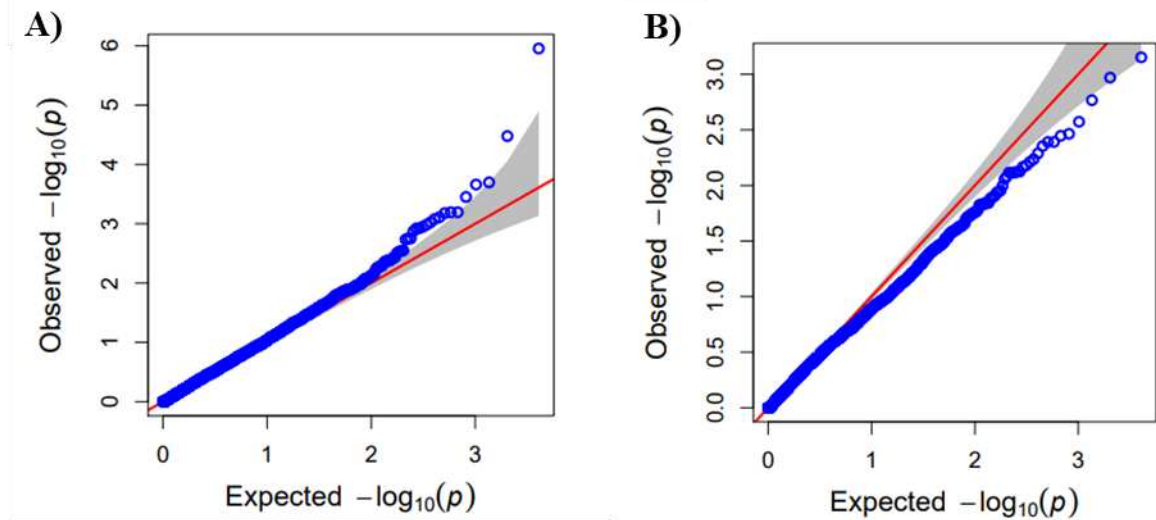


Tabela 2 - Lista dos SNPs significativos associados com a porcentagem de vagens imaturas abertas em genótipos de soja sob deficit hídrico para os experimentos 1 e 2.

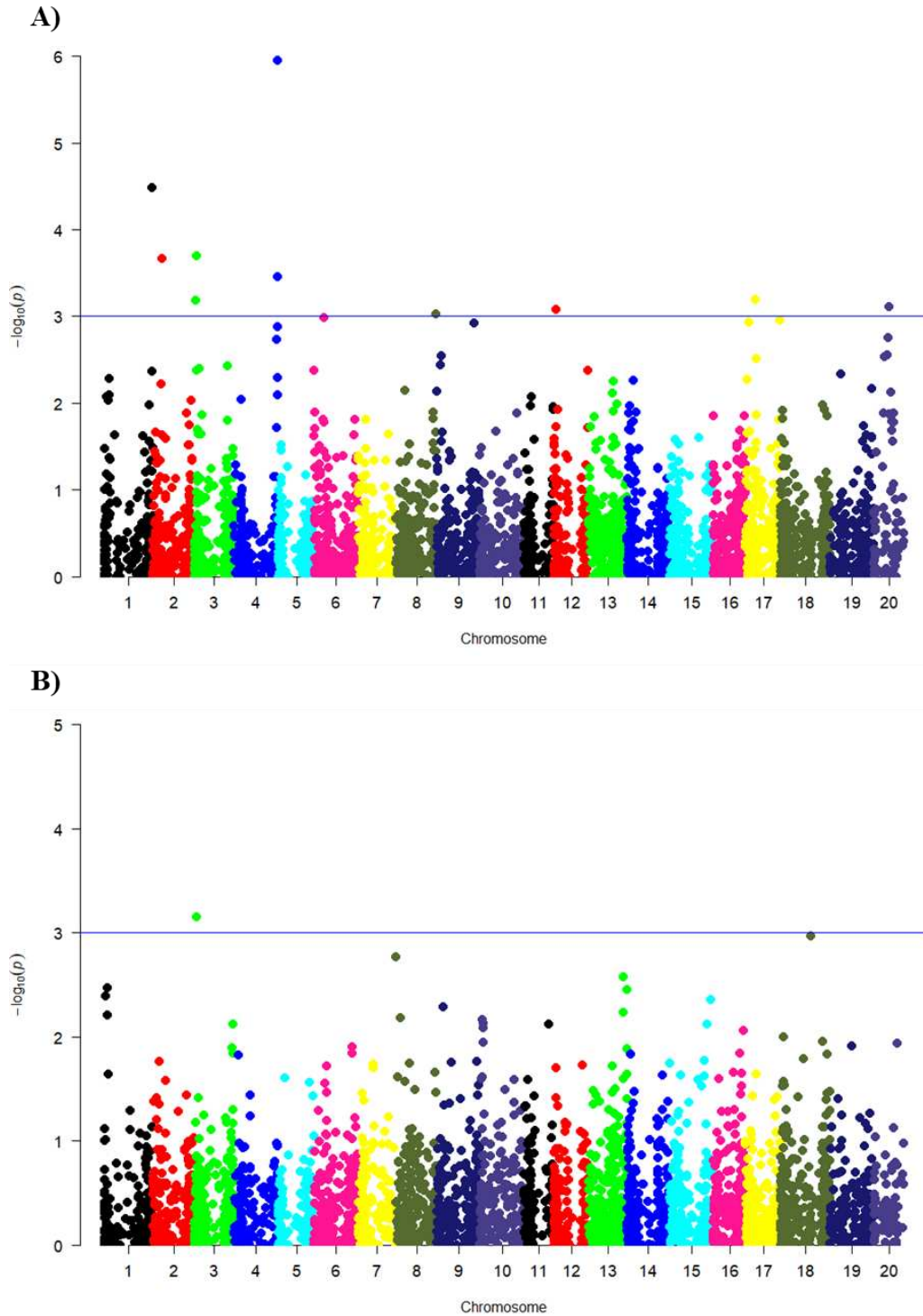
Experimento 1						
SNP	Cromossomo	Posição (pares de bases)	p-valor*	$-\log_{10}(p)$	maf	
Gm01_55821382	1	55821382	3,33E-05	4,48	0,19	
Gm02_10409311	2	10409311	2,18E-04	3,66	0,10	
Gm03_1432952	3	1432952	6,63E-04	3,18	0,45	
Gm03_2358887	3	2358887	2,01E-04	3,70	0,07	
Gm04_50758389	4	50758389	1,11E-06	5,95	0,17	
Gm04_50761700	4	50761700	3,53E-04	3,45	0,28	
Gm08_46212417	8	46212417	9,51E-04	3,02	0,04	
Gm12_2578349	12	2578349	8,33E-04	3,08	0,25	
Gm17_11801491	17	11801491	6,39E-04	3,19	0,12	
Gm17_11801522	17	11801522	6,39E-04	3,19	0,12	
Gm20_18343525	20	18343525	7,77E-04	3,11	0,08	

Experimento 2						
SNP	Cromossomo	Posição (pares de bases)	p-valor*	$-\log_{10}(p)$	maf	
Gm03_2201702	3	2201702	7,03E-04	3,15	0,12	

* Significância de associação entre marcador e QTL.

Na Figura 4A e B estão apresentados os gráficos do tipo “Manhattan plot” referentes ao GWAS apresentado na Tabela 2 para os experimentos 1 e 2, respectivamente. Verifica-se nas figuras os valores de p na escala $-\log_{10}(p)$ versus a posição genômica dos SNPs nos vinte cromossomos. Os SNPs localizados em pontos mais altos no gráfico correspondem a pequenos valores de p e indicam que a região genômica correspondente tem uma forte associação com a característica.

Figura 4 - Manhattan plot com a distribuição gráfica dos valores de $-\log_{10}(p)$ dos marcadores SNPs nos 20 cromossomos da soja associados com a porcentagem de vagens imaturas abertas no (A) experimento 1 e no (B) experimento 2.

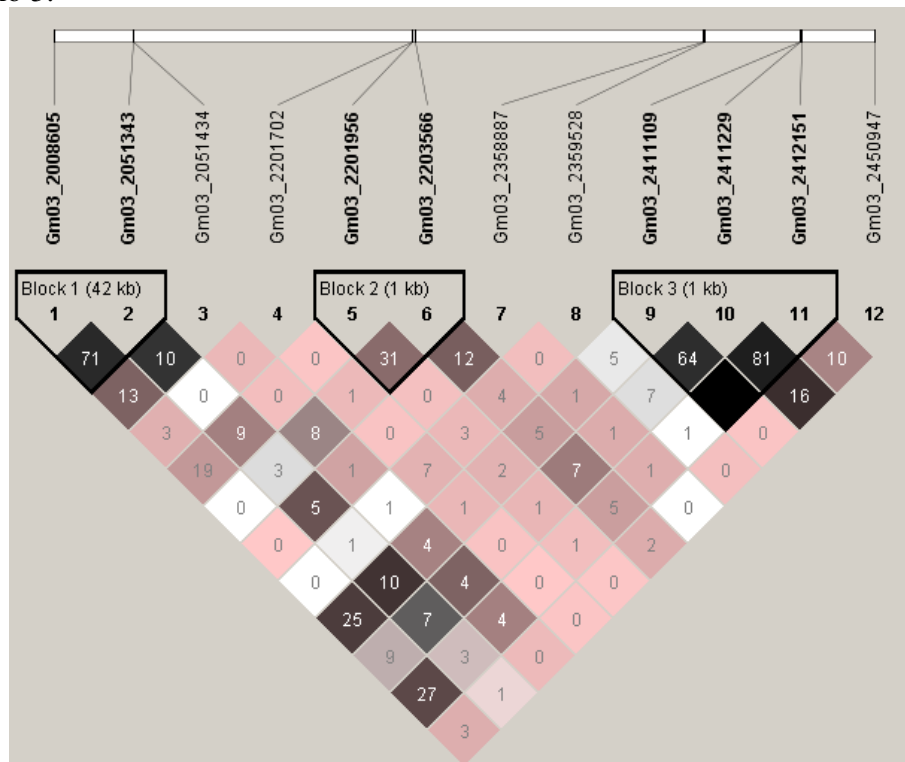


Marcadores SNPs localizados acima da linha azul, na posição $-\log_{10}(p)$ igual a 3,0, foram considerados associados com a resistência à abertura de vagens imaturas.

O SNP mais significativo foi o Gm04_50758389 (p -valor = $1,11E-06$ e $maf = 0,17$) no cromossomo 4, seguido de Gm01_55821382 (p -valor = $3,33E-05$ e $maf = 0,19$) no cromossomo 1.

O SNP significativo encontrado para o experimento 2 não coincide com os SNPs encontrados no experimento 1. Contudo, o Gm03_2201702 (experimento 2) e o Gm03_2358887 (experimento 2) estão muito próximos, a aproximadamente 157185 pares de bases de distância. Assim, a determinação de blocos de desequilíbrio de ligação (LD) por “Haploview” mostrou um bloco de desequilíbrio entre estes dois SNPs, representado pelo “Block 2” com 1 Kb, na Figura 5.

Figura 5 - Blocos de desequilíbrio de ligação (LD) formados próximos aos SNPs significativos Gm03_2358887 (experimento 1) e Gm03_2201702 (experimento 2) localizados no cromossomo 3.



LD indicado em r^2 . O LD forte é indicado por cinza escuro/vermelho, enquanto cinza claro/rosa e branco indicam valores não informativos e de baixa confiança, respectivamente.

A identificação de genes e proteínas responsáveis por desencadear a abertura de vagens imaturas nas plantas de soja é fundamental para que trabalhos comecem a ser desenvolvidos em programas de melhoramento na busca pela eliminação e/ou redução dos danos e perdas na produtividade. Os genes e proteínas identificados neste trabalho foram verificados para cada SNP significativo com uma faixa de 4000 pares de base para mais e para menos. Após a filtragem das regiões que envolvem os locus encontrados neste estudo, foram reconhecidos 10

genes candidatos em 8 cromossomos diferentes no primeiro experimento e um gene em um cromossomo no experimento 2 (Tabela 3). Alguns marcadores significativos estão em regiões já descritas de acordo com o banco de dados SoyBase. Contudo, nenhum QTL descrito refere-se à abertura de vagens imaturas diretamente, uma vez que ainda não existem estudos para a característica.

Tabela 3 - Genes e proteínas candidatos nas regiões genômicas vinculadas aos polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) associados com a abertura de vagens imaturas em soja nos dois experimentos.

Experimento 1		
SNP	Região pesquisada	Descrição
Gm01_55821382_G_A	55819382 - 55823382	-
Gm02_10409311_C_A	10407311 - 10411311	MYB transcription factor
Gm03_1432952_A_T	1430952 - 1434952	(+)- neomenthol dehydrogenase (E1.1.1.208)
Gm03_2358887_T_C	2356887 - 2360887	Domain of unknown function (DUF296) / AT-hook motif nuclear localized protein 18-related
Gm04_50758389_C_A	50756389 - 50760389	Myosin heavy chain-related / Unconventional myosin tail, actin- and lipid-binding (Myosin_TH1)
Gm04_50758389_C_A	50756389 - 50760389	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase - Leucine Rich Repeat (LRR_1) / Protein tyrosine kinase (Pkinase_Tyr) / Leucine rich repeat N-terminal domain (LRRNT_2) / Leucine rich repeat (LRR_8)
Gm04_50761700_T_C	50759700 - 50763700	Leucine rich repeat (LRR_1) / Protein tyrosine kinase (Pkinase_Tyr) / Leucine rich repeat N-terminal domain (LRRNT_2) / Leucine rich repeat (LRR_8)
Gm08_46212417_A_G	46210417 - 46214417	Furostanol glycoside 26-O-beta-glucosidase / Protodioscin 26-O-beta-D-glucosidase / Torvosidase / Beta-glucosidase / Gentobiase
Gm12_2578349_A_T	2576349 - 2580349	SAUR family protein (SAUR) - auxin-induced protein X10A-like
Gm12_2578349_A_T	2576349 - 2580349	SAUR family protein (SAUR) -auxin-induced protein 6B-like
Gm12_2578349_A_T	2576349 - 2580349	Auxin responsive protein (Auxin inducible)
Gm17_11801491_G_C	11799491 - 11803491	Protein of unknown function (DUF1639) (DUF1639)
Gm17_11801522_G_C	11799522 - 11803522	Protein of unknown function (DUF1639) (DUF1639)
Gm20_18343525_C_A	18341525 - 18345525	-
Experimento 2		
SNP	Região pesquisada	Descrição
Gm03_2201702_A_C	2199702 - 2203702	PTHR13743 (Beige/beach-related) - PTHR13743 (Neurobeachin-like protein 1)

4 DISCUSSÃO

Neste trabalho, o deficit hídrico influenciou a ocorrência da abertura de vagens imaturas em alguns genótipos de soja, principalmente no experimento 1. Contudo, esse processo de abertura das vagens imaturas se deu em apenas alguns genótipos, de forma que, mesmo sob deficit hídrico, a maioria dos genótipos permaneceu com as vagens fechadas. Assim, além do fator ambiental, as plantas de soja também devem ser analisadas sob o aspecto genômico. No processo de deiscência, a abertura das vagens após a maturação, está diretamente relacionada às diferenças de tensão desenvolvidas nas células da camada esclerenquimática interna em decorrência da desidratação (ESTORNELL et al., 2013; BALLESTER & FERRÁNDIZ, 2017; ZHANG et al., 2018). Diversos autores examinaram a relação entre a deiscência das vagens e a baixa umidade no solo e no ambiente, no qual constataram que este pode ser considerado o principal fator que controla a frequência de deiscência das vagens de soja (TSUCHIYA, 1987; ZHANG et al., 2018; ZHANG & SINGH, 2020).

A abertura de vagens imaturas é um caráter quantitativo. Isso indica que vários genes são responsáveis por esta característica. A GWAS é uma ferramenta de grande utilidade, pois permite identificar regiões genômicas relacionadas com a característica ao longo de todo o genoma da espécie, facilitando a descoberta de novos QTLs, genes, e ainda pode auxiliar a seleção assistida no futuro.

No experimento 2, apenas um SNP foi identificado, provavelmente devido à baixa porcentagem de vagens imaturas abertas identificada nos genótipos avaliados nesta época de cultivo. A capacidade do GWAS em identificar uma verdadeira associação entre um SNP e uma característica vai depender da variância fenotípica dentro da população que foi explicada pelo marcador. Por outro lado, 11 SNPs foram significativos no experimento 1, no qual foram reconhecidos 11 genes candidatos em seis cromossomos diferentes.

No experimento 1, o marcador Gm02_10409311 identificado no cromossomo 2 foi significativo e está relacionado ao fator de transcrição MYB. Os fatores de transcrição MYB representam uma das maiores famílias de fatores de transcrição conhecidas em plantas. Estão associados à regulação de diversos processos nas plantas, como metabolismo secundário, respostas a hormônios e regulação de morfogênese celular, além da participação na defesa contra fatores bióticos e abióticos (BUCK & ATCHLEY, 2003; DUBOS et al., 2010). A síntese de MYB nas plantas acompanha o acúmulo de ácido abscísico (ABA) endógeno durante os estágios mais avançados de respostas ao estresse (ABE et al., 2003). De acordo com Lindemose et al. (2013), a interação de genes da família de fatores de transcrição MYB com o ABA provoca

diversos mecanismos de resposta ao estresse abiótico, tais como regulação da abertura estomática, supressão da ativação do gene responsivo ao ácido jasmônico, regulação da resposta ao estresse por déficit hídrico por meio da interação entre ABA e auxina, entre outros. Outros trabalhos também relatam a participação dos fatores de transcrição MYB na resposta das plantas ao estresse hídrico em diferentes espécies de plantas (COMINELLI et al., 2005; RODRIGUES et al., 2011; SHAN et al., 2012; CHEN et al., 2015). Estudos realizados para *Vigna angularis* (feijão azuki) sugerem que o gene que codifica o fator de transcrição MYB46 é um gene candidato para conteúdo de fibra de vagem e deiscência de vagem (SAKAI et al., 2015; TAKAHASHI et al., 2019).

No cromossomo 3, o SNP Gm03_1432952 relacionado ao (+)- neomentol desidrogenase (E1.1.1.208) também foi significativo no trabalho de Tian et al. (2020) avaliando QTLs para conteúdo de proteína e óleo em resposta à densidade de plantio de sementes de soja. O (+)- neomentol desidrogenase é um aldeído redutase que catalisa a redução dos grupos aldeído carbonil em aldeídos saturados e alfa, beta-insaturados com mais de cinco carbonos e está envolvido na resistência basal contra patógenos em arabis (CHOI et al., 2008; YAMAUCHI et al., 2011). O marcador Gm03_2358887, neste mesmo cromossomo, está relacionada à “*AT-hook motif nuclear localized protein 18-related*”, também chamado de AHL18. Os AHLs participam de vários processos de desenvolvimento, como a regulação da senescência foliar negativa (LIM et al., 2007); a padronização e diferenciação dos órgãos reprodutivos (NG et al., 2009); o início do florescimento (YUN et al., 2012); na defesa e imunidade de plantas (LU et al., 2010; YADETA et al., 2011); e como modulador da arquitetura do sistema radicular (ŠIRL et al., 2020).

O SNP mais significativo, Gm04_50758389 no cromossomo 4, bem como o Gm04_50761700, no mesmo cromossomo, estão localizados em regiões descritas para ação de receptores quinase de repetição rico em leucina (*leucine-rich repeat receptor-like protein kinase* ou LRR-RLKs). Os LRR-RLKs das plantas desempenham papéis importantes no crescimento, desenvolvimento, diferenciação e respostas ao estresse (DIÉVART & CLARK, 2004; BUTENKO & AALEN, 2012; ZHOU et al., 2016). Liu et al. (2020) relataram que a proteína LRR-RLK HSL3 regula o fechamento estomático e a resposta ao estresse por seca modulando a homeostase do peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Os autores descreveram que o estresse hídrico induz a produção de ABA e H₂O₂, que induz a transcrição de HSL3, por sua vez modulando a expressão dos genes relacionados à homeostase das espécies reativas de oxigênio RbohF, SOD1 e CAT3. Além destas funções, o maior grupo de LRR-RLKs (subclasse XI) inclui as proteínas receptoras HAESA (HAE) e HAESA-LIKE2 (HSL2), que são

necessárias para direcionar a separação celular durante a abscisão do órgão floral em arabidopsis (BUTENKO et al., 2003; CHO et al., 2008; STENVIK et al., 2008). Neste mesmo sentido, Wang et al. (2017) relataram que IDL6-HAE/HSL2 promove a expressão de um gene da poligalacturonase (o ADPG2) e aumenta a atividade da poligalacturonase nas folhas de arabidopsis, o que por sua vez reduz o conteúdo de pectina foliar e a robustez da folha.

O marcador Gm12_2578349 está relacionado às proteínas responsivas/induzidas pela auxina, chamadas de *Small auxin-up RNA* (SAUR). A auxina e, conseqüentemente as SAURs, tem influência em muitos aspectos do crescimento e desenvolvimento da planta, como por meio da regulação da divisão, expansão e diferenciação celular (SPARTZ et al., 2012; STAMM & KUMAR, 2013; HOU et al., 2013). As proteínas SAURs estão envolvidas na regulação do crescimento adaptativo ao estresse abiótico, compartilhando uma função no alongamento celular, induzindo o crescimento da planta ao regular a acidificação da parede celular e regulando o crescimento em resposta a estímulos ambientais (STORTENBEKER & BEMER, 2019). Alguns perfis de transcrição de arabidopsis apontam que os genes SAUR são notavelmente induzidos pelo hormônio inibidor de crescimento ABA (REN & GRAY, 2015; QIU et al., 2020). He et al. (2021) constataram que o membro da família SAUR, AtSAUR32, desempenha um papel importante na tolerância à seca via transdução de sinal ABA. Lembrando que o ABA é um hormônio vegetal que, em situações de déficit hídrico, regula vários processos moleculares e celulares, incluindo a abertura dos estômatos (para controlar a taxa de transpiração) e os níveis de transcrição de genes responsivos ao estresse ao longo do desenvolvimento (KUROMORI et al., 2018; YOSHIDA & FERNIE, 2018). Além disso, quando as plantas são submetidas ao déficit hídrico, a biossíntese de ABA ocorre rapidamente, e é translocado das raízes para os brotos, regulando o crescimento das folhas e induzindo o fechamento estomático para combater o estresse (GUO et al., 2020).

Estes marcadores, de forma geral, estão relacionados a genes e proteínas envolvidos em respostas que as plantas produzem diante de situações de estresse abióticos e bióticos. Estes resultados são aceitáveis, uma vez que, o déficit hídrico foi utilizado para estimular a abertura de vagens imaturas em alguns genótipos. Fazendo com que a planta desenvolvesse e expressasse determinados tipos de respostas.

Por outro lado, o SNP significativo que mais pode nos fornecer informações importantes acerca da abertura de vagens imaturas em soja é o Gm08_46212417. Este marcador está localizado em uma região no cromossomo 8 relacionado à beta-glucosidase. As beta-glucosidases vegetais desempenham papéis importantes em muitos processos biológicos, como ativação de fitohormônios, síntese de lignina, degradação da parede celular e mecanismos de

defesa (ESEN, 1993; WANG et al., 2013). Em *Arabidopsis*, a beta-glucosidase BGLU45 foi expressa em vagens, onde pode estar envolvida na lignificação das valvas e das camadas marginais deste órgão (ESCAMILLA-TREVIÑO et al., 2006). Watcharatpong et al. (2020) avaliaram feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) e relataram que genes que codificam beta-glucosidases e MYB26 estão relacionados com a biossíntese da parede celular. A beta-glucosidase é uma enzima glucosídeo hidrolase e está envolvida na via do fenilpropanóide que leva à biossíntese da lignina. Além disso, a beta-glucosidase é uma enzima celulase que desempenha um papel no metabolismo dos polissacarídeos da parede celular em procariotos e eucariotos. Está envolvida no desenvolvimento da parede celular vegetal a partir da via de degradação da parede celular (MINIC & JOUANIN, 2006).

5 CONCLUSÕES

Este trabalho é inovador e apresenta os resultados de estudos iniciais da ocorrência de abertura de vagens imaturas em plantas de soja sob déficit hídrico.

Dentre os marcadores SNPs significativos encontrados para a característica de interesse, abertura de vagens imaturas de soja, o marcador Gm08_46212417 será extremamente importante para estudos posteriores de seleção assistida por marcadores moleculares no melhoramento genético da soja para resistência à característica.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIOLA, O.; ANGEL, J.M.; AVNER, P.; BACHMANOV, A.A.; BELKNAP, J.K.; BENNETT, B.; et al. The nature and identification of quantitative trait loci: A community's view. **Nature Review Genetics**, v. 4, p. 911-916, 2003. <<https://doi.org/10.1038/nrg1206>>
- ABE, H.; URAO, T.; ITO, T.; SEKI, M.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Arabidopsis AtMYC2 (bHLH) and AtMYB2 (MYB) function as transcriptional activators in abscisic acid signaling. **The Plant Cell**, v. 15, p. 63-78, 2003.
- BALLESTER, P.; FERRÁNDIZ, C. Shattering fruits: variations on a dehiscent theme. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 35, p. 68-75, 2017. <<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.11.008>>
- BARRETT, J.C.; FRY, B.; MALLER, J.; DALY, M.J. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. **Bioinformatics**, v. 21: 2, p. 263-265, 2005. <<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bth457>>
- BRADBURY, P.J.; ZHANG, Z.; KROON, D. E.; CASSTEVENS, T. M.; RAMDOSS, Y.; BUCKLER. TASSEL: Software for association mapping of complex traits in diverse samples. **Bioinformatics Applications Note**, v.23, p. 2633-2635, 2007.

BUCK, M.J.; ATCHLEY, W.R. Phylogenetic analysis of plant basic helix-loop-helix proteins. **Journal of Molecular Evolution**, v, 56, p. 742-750, 2003.

BUTENKO, M.A.; PATTERSON, S.E.; GRINI, P.E.; STENVIK, G.E.; AMUNDSEN, S.S.; MANDAL, A., AALEN, R.B. Inflorescence deficient in abscission controls floral organ abscission in *Arabidopsis* and identifies a novel family of putative ligands in plants. **Plant Cell**, v. 15, p. 2296–2307, 2003. <<https://doi.org/10.1105/tpc.014365>>

BUTENKO, M.A.; AALEN, R.B. Receptor ligands in development. In: TAX, F.; KEMMERLING, B. (Editors). **Receptor-like kinases in plants: from development to defense**. Berlin: Springer; p. 195–226, 2012.

CÂMARA, G.M.S. Adubação. In: SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BORÉM, A. **Soja do plantio à colheita**. Viçosa-MG. p. 110-148. 2015.

CHEN, T.; LI, W.; HU, X.; GUO, J.; LIU, A.; ZHANG, B. A cotton MYB transcription factor, GbMYB5, is positively involved in plant adaptive response to drought stress. **Plant and Cell Physiology**, v. 56, p. 917-929, 2015.

CHO, S.K.; LARUE, C.T.; CHEVALIER, D.; WANG, H.; JINN, T.L.; ZHANG, S.; WALKER, J.C. Regulation of floral organ abscission in *Arabidopsis thaliana*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the U S A.**, v. 105, p. 15629–15634, 2008. <<https://doi.org/10.1073/pnas.0805539105>>

CHOI, H.W.; LEE, B.G.; KIM, N.H.; PARK, Y.; LIM, C.W.; SONG, H.K.; HWANG, B.K. A role for a menthone reductase in resistance against microbial pathogens in plants. **Plant Physiology**, v. 148, p. 383-401, 2008. <<https://doi.org/10.1104/pp.108.119461>>

COMINELLI, E.; GALBIATI, M.; VAVASSEUR, A.; CONTI, L.; SALA, T.; VUYLSTEKE, M.; LEONHARDT, N.; DELLAPORTA, S.L.; TONELLI, C. A guard-cell-specific MYB transcription factor regulates stomatal movements and plant drought tolerance. **Current Biology**, v. 15, p. 1196-1200, 2005.

CRUZ, C.D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, v.35, n.3, p.271-276, 2013.

DANTAS, S.A.G. **Estratégia de indução de déficit hídrico em soja e desenvolvimento de GWAS para germinação e vigor de sementes**. Tese (doutorado), Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 80p., 2018. <<https://locus.ufv.br/handle/123456789/22007>>

DIÉVART, A.; CLARK, S.E. LRR-containing receptors regulating plant development and defense. **Development**, v. 131(2), p. 251-261, 2004. <<https://doi.org/10.1242/dev.00998>>

DONG, Y.; YANG, X.; LIU, J.; WANG, B.H.; LIU, B.L.; WANG, Y.Z. Pod shattering resistance associated with domestication is mediated by a NAC gene in soybean. **Nature Communications**. v. 5, p. 1-11, 2014. <<https://doi.org/10.1038/ncomms4352>>

DUBEY, A.; KUMAR, A.; ABD_ALLAH, E.F.; HASHEM, A.; KHAN, M.L. Growing more with less: Breeding and developing drought resilient soybean to improve food security. **Ecological Indicators**, v. 105, p. 425-437, 2019. <<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.03.003>>

DUBOS, C.; RALF STRACKE, R.; GROTEWOLD, E.; WEISSHAAR, B.; MARTIN, C.; LEPINIEC, L. MYB transcription factors in Arabidopsis. **Trends in Plant Science**, v.15(10), p. 573-581, 2010. <<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.06.005>>

ESCAMILLA-TREVIÑO, L.L.; CHEN, W.; CARD, M.L.; SHIH, M-C.; CHENG, C-L.; POULTON, J.E. *Arabidopsis thaliana* β -Glucosidases BGLU45 and BGLU46 hydrolyse monolignol glucosides. **Phytochemistry**, v. 67(15), p. 1651-1660, 2006. <<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.05.022>>

ESEN, A. Beta-glucosidases: overview. In: ESEN, A. (Ed.). **Biochemistry and Molecular Biology**. American Chemical Society, Washington DC, p. 1–14, 1993.

ESTORNELL, L.H.; AGUSTI, J.; MERELO, P.; TALÓN, M.; TADEO, F.R. Elucidating mechanisms underlying organ abscission. **Plant Science**, v. 199:200, p. 48-60, 2013. <<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.10.008>>

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages on soybean development**. Ames: Iowa State University/Cooperative Extension Service, (Special Report, 80), p. 11, 1977.

FUNATSUKI, H.; SUZUKI, M.; HIROSE, A.; INABA, H.; YAMADA, T.; HAJIKA, M.; KOMATSU, K.; KATAYAMA, T.; SAYAMA, T.; ISHIMOTO, M.; FUJINO, K. Molecular basis of a shattering resistance boosting global dissemination of soybean. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 50, p. 17797-17802, 2014. <<https://doi.org/10.1073/pnas.1417282111>>

GARCIA, A.; CALVO, É.S.; KIIHL, R.A.S.; HARADA, A.; HIROMOTO, D.M.; VIEIRA, L.G.E. Molecular mapping of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) resistance genes: discovery of a novel locus and alleles. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 117, n. 4, p. 545-553, 2008. <<https://doi.org/10.1007/s00122-008-0798-z>>

GUO, Z.; XU, H.; LEI, Q.; DU, J.; LI, C.; WANG, C.; YANG, Y.; YANG, Y.; SUN, X. Arabidopsis transcription factor LBD15 mediates ABA signaling and water-deficit stress tolerance via regulating ABI4 expression. **Plant Journal**, v. 104, p. 510–521, 2020. <<https://doi.org/10.1111/tbj.14942>>

HARTL, D.L.; CLARK, A.G. **Principles of population genetics**. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, 1997.

HE, Y.; LIU, Y.; LI, M.; LAMIN-SAMU, A.T.; YANG, D.; YU, X. IZHAR, M.; JAN, I.; ALI, M. LU, G. The Arabidopsis SMALL AUXIN UP RNA32 protein regulates ABA-mediated responses to drought stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 259, 2021. <<https://doi.org/10.3389/fpls.2021.625493>>

HOU, K.; WU, W.; GAN, S.S. SAUR36, a small auxin up RNA gene, is involved in the promotion of leaf senescence in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 161(2), p. 1002-1009, 2013. <<https://doi.org/10.1104/pp.112.212787>>

KIIHL, R.A.S.; BAYS, I.A.; ALMEIDA, L.A. **Soybean breeding for the Brazilian tropics**. In: Proceedings of a Symposium Tsukuba, p. 141-143, 1983.

KUROMORI, T.; SEO, M.; SHINOZAKI, K. ABA transport and plant water stress responses. **Trends Plant Science**, v. 23, p. 513-522, 2018. <<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.04.001>>

LIM, P.O.; KIM, Y.; BREEZE, E.; KOO, J.C.; WOO, H.R.; RYU, J.S.; PARK, D.H.; BEYNON, J.; TABRETT, A.; BUCHANAN-WOLLASTON, V.; NAM, H.G. Overexpression of a chromatin architecture-controlling AT-hook protein extends leaf longevity and increases the post-harvest storage life of plants. **Plant Journal**, v. 52(6), p. 1140-1153, 2007. <<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03317.x>>

LINDEMOSE, S.; O'SHEA, C.; JENSEN, M.K.; SKRIVER, K. Structure, function and networks of transcription factors involved in abiotic stress responses. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, p. 5842-5878, 2013.

LIU, X-S.; LIANG, C-C.; HOU, S-G.; WANG, X.; CHEN, D-H.; SHEN, J-L.; ZHANG, W.; WANG, M. The LRR-RLK protein HSL3 regulates stomatal closure and the drought stress response by modulating hydrogen peroxide homeostasis. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 1789, 2020. <<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.548034>>

LU, H.; ZOU, Y.; FENG, N. Overexpression of AHL20 negatively regulates defenses in Arabidopsis. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 52(9), p. 801-808, 2010. <<https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2010.00969.x>>

MILES, C.; WAYNE, M. Quantitative trait locus (QTL) analysis. **Nature Education**, v. 1: 208, 2008.

MINIC, Z.; JOUANIN, L. Plant glycoside hydrolases involved in cell wall polysaccharide degradation. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 44, p. 435-449, 2006. <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2006.08.001>>

NG, K.H.; YU, H.; ITO, T. AGAMOUS controls GIANT KILLER, a multifunctional chromatin modifier in reproductive organ patterning and differentiation. **PLoS Biology**, v. 7(11), e1000251, 2009. <<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000251>>

PALHARINI, W.G. **Influência do estresse hídrico sobre caracteres agronômicos, fisiológicos e abertura de vagens imaturas em soja**. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 44 p., 2016. <<https://locus.ufv.br/handle/123456789/9284>>

PATERSON, A.H. Molecular dissection of quantitative traits: Progress and prospects. **Genome Research**, v. 5, p. 321-333, 1995. <<https://doi.org/10.1101/gr.5.4.321>>

PATHARKAR, O.R.; WALKER, J.C. Connections between abscission, dehiscence, pathogen defense, drought tolerance, and senescence. **Plant Science**, v. 284, p. 25-29, 2019. <<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.03.016>>

QIU, T.; QI, M.; DING, X.; ZHENG, Y.; ZHOU, T.; CHEN, Y.; HAN, N.; ZHU, M.; BIAN, H.; WANG, J. The SAUR41 subfamily of SMALL AUXIN UP RNA genes is abscisic acid inducible to modulate cell expansion and salt tolerance in *Arabidopsis thaliana* seedlings. **Annals of Botany**, v. 125, p. 805-819, 2020. <<https://doi.org/10.1093/aob/mcz160>>

R CORE TEAM. **R a language and environment for statistical computing**. r foundation for statistical computing. Vienna, Austria, 2016.

RAMALINGAM, J.; ALAGARASAN, G.; SAVITHA, P.; LYDIA, K.; POTHIRAJ, G.; VIJAYAKUMAR, E.; SUDHAGAR, R.; SINGH, A.; VEDNA, K.; VANNIARAJAN, C. Improved host-plant resistance to phytophthora rot and powdery mildew in soybean (*Glycine*

max (L.) Merr.). **Scientific Reports**, v. 10, p. 1-11, 2020. <<https://doi.org/10.1038/s41598-020-70702-x>>

REN, H.; GRAY, W.M. SAUR proteins as effectors of hormonal and environmental signals in plant growth. **Molecular Plant**, v. 8, p. 1153–1164, 2015. <<https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.05.003>>

RODRIGUES, F.A.; DA GRAÇA, J.P.; DE LAIA, M.L.; NHANI-JR, A.; GALBIATI, J.A.; FERRO, M.I.T.; FERRO, J.A.; ZINGARETTI, S.M. Sugarcane genes differentially expressed during water deficit. **Biologia Plantarum**, v. 55, p. 43-53, 2011.

SAKAI, H.; NAITO, K.; TAKAHASHI, Y.; SATO, T.; YAMAMOTO, T.; MUTO, I.; ITOH, T.; TOMOOKA, N. The vigna genome server, ‘VigGS’: A genomic knowledge base of the genus vigna based on high-quality, annotated genome sequence of the azuki bean, *Vigna angularis* (Willd.) Ohwi & Ohashi. **Plant Cell Physiol.**, v. 57(1), 2015. <<https://doi.org/10.1093/pcp/pcv189>>

SCHOLANDER, P.F.; HAMMEL, H.T.; BRADSTREET, E.D.; HEMMINGSEN, E.A. Sap pressure in vascular plants. **Science**, v. 148, p. 339-346, 1965. <<https://doi.org/10.1126/science.148.3668.339>>

SEDIYAMA, T.; SILVA, F.L.; BOREM, A. **Soja do plantio à colheita**. Viçosa-MG, p. 333, 2015.

SHAN, H.; CHEN, S.; JIANG, J.; CHEN, F.; CHEN, Y.; GU, C.; LI, P.; SONG, A.; ZHU, X.; GAO, H.; ZHOU, G.; LI, T.; YANG, X. Heterologous expression of the chrysanthemum R2R3-MYB transcription factor CmMYB2 enhances drought and salinity tolerance, increases hypersensitivity to ABA and delays flowering in *Arabidopsis thaliana*. **Molecular Biotechnology**, v. 51, p. 160–173, 2012. <<https://doi.org/10.1007/s12033-011-9451-1>>

ŠIRL, M.; ŠNAJDROVÁ, T.; GUTIÉRREZ-ALANÍS, D.; DUBROVSKY, J.G.; VIELLE-CALZADA, J.P.; KULICH, I.; SOUKUP, A. At-hook motif nuclear localised protein 18 as a novel modulator of root system architecture. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21(5), p. 1886, 2020. <<https://doi.org/10.3390/ijms21051886>>

SONG, L.; PRINCE, S.; VALLIYODAN, B.; JOSHI, T.; SANTOS, J.V.M.; WANG, J.; LIN, L.; WAN, J.; WANG, Y.; XU, D.; NGUYEN, H.T. Genome-wide transcriptome analysis of soybean primary root under varying water-deficit conditions. **BMC Genomics**, v. 17, n. 57, 2016. <<https://doi.org/10.1186/s12864-016-2378-y>>

SPARTZ, A.K.; LEE, S.H.; WENGER, J.P.; GONZALEZ, N.; ITOH, H.; INZÉ, D.; PEER, W.A.; MURPHY, A.S.; OVERVOORDE, P.J.; GRAY, W.M. The SAUR19 subfamily of SMALL AUXIN UP RNA genes promote cell expansion. **Plant Journal**, v. 70(6), p. 978-990, 2012. <<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2012.04946.x>>

STAMM, P.; KUMAR, P.P. Auxin and gibberellin responsive Arabidopsis SMALL AUXIN UP RNA36 regulates hypocotyl elongation in the light. **Plant Cell Reports**, v. 32(6), p. 759-769, 2013. <<https://doi.org/10.1007/s00299-013-1406-5>>

STENVIK, G.E.; TANDSTAD, N.M.; GUO, Y.; SHI, C.L.; KRISTIANSSEN, W.; HOLMGREN, A.; CLARK, S.E.; AALEN, R.B.; BUTENKO, M.A. The EPIP peptide of INFLORESCENCE DEFICIENT IN ABSCISSION is sufficient to induce abscission in

Arabidopsis through the receptor-like kinases HAESA and HAESA-LIKE2. **Plant Cell**, v. 20, p. 1805–1817, 2008. <<https://doi.org/10.1105/tpc.108.059139>>

STORTENBEKER, N.; BEMER, M. The SAUR gene family: the plant's toolbox for adaptation of growth and development. **Journal of Experimental Botany**, v. 70, p. 17–27, 2019. <<https://doi.org/10.1093/jxb/ery332>>

TAKAHASHI, Y.; KONGJAIMUN, A.; MUTO, C.; KOBAYASHI, Y.; KUMAGAI, M.; SAKAI, H.; SATOU, K.; TERUYA, K.; SHIROMA, A.; SHIMOJI, M.; et al. Genetic factor for twisting legume pods identified by fine-mapping of shattering-related traits in azuki bean and yard-long bean. **BioRxiv**, 2019. <<https://doi.org/10.1101/774844>>

TIAN, X.; ZHANG, K.; LIU, S.; SUN, X.; LI, X.; SONG, J.; QI, Z.; WANG, Y.; FANG, Y.; WANG, J.; JIANG, S.; YANG, C.; TIAN, Z.; LI, W.X.; NING, H. Quantitative trait locus analysis of protein and oil content in response to planting density in soybean (*Glycine max* [L.] Merri.) seeds based on SNP linkage mapping. **Frontiers in Genetics**, v. 11(563), 2020. <<https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00563>>

TSUCHIYA, T. Physiological and genetic analysis of pod shattering in soybeans. **Japan Agricultural Research Quarterly**, v. 21, p. 166-175, 1987.

TRAN, L.S.P.; MOCHIDA, K. Functional genomics of soybean for improvement of productivity in adverse conditions. **Functional & Integrative Genomics**, v. 10, p. 447-462, 2010. <<https://doi.org/10.1007/s10142-010-0178-z>>

WANG, Y.; MAXIME, C.; RICHARD, S.; SIMON, H. Plant cell wall lignification and monolignol metabolism. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 220, 2013. <<https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00220>>

WANG, X.; HOU, S.; WU, Q.; LIN, M.; ACHARYA, B.R.; WU, D., ZHANG, W. IDL6-HAE/HSL2 impacts pectin degradation and resistance to *Pseudomonas syringae* pv tomato DC3000 in Arabidopsis leaves. **The Plant Journal**, v. 89, p. 250–263, 2017. <<https://doi.org/10.1111/tpj.13380>>

WATCHARATPONG, P.; KAGA, A.; CHEN, X.; SOMTA, P. Narrowing Down a Major QTL Region Conferring Pod Fiber Contents in Yardlong Bean (*Vigna unguiculata*), a Vegetable Cowpea. **Genes**, v. 11(363), 2020. <<https://doi.org/10.3390/genes11040363>>

YADETA, K.A.; HANEMIAN, M.; SMIT, P.; HIEMSTRA, J.A.; PEREIRA, A.; MARCO, Y.; THOMMA, B.P. The *Arabidopsis thaliana* DNA-binding protein AHL19 mediates verticillium wilt resistance. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 24(12), p. 1582-91, 2011. <<https://doi.org/10.1094/MPMI-04-11-0090>>

YAMAUCHI, Y.; HASEGAWA, A.; TANINAKA, A.; MIZUTANI, M.; SUGIMOTO, Y. NADPH-dependent reductases involved in the detoxification of reactive carbonyls in plants. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 286, p. 6999-7009, 2011. <<https://doi.org/10.1074/jbc.M110.202226>>

YOSHIDA, T.; FERNIE, A.R. Remote control of transpiration via ABA. **Trends in Plant Science**, v. 23, p.755–758, 2018. <[10.1016/j.tplants.2018.07.001](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.07.001)>

YUN, J.; KIM, Y.S.; JUNG, J.H.; SEO, P.J.; PARK, C.M. The AT-hook motif-containing protein AHL22 regulates flowering initiation by modifying FLOWERING LOCUS T

chromatin in Arabidopsis. **Journal of Biological Chemistry**; v. 287(19), p. 15307-15316, 2012. <<https://doi.org/10.1074/jbc.M111.318477>>

ZHANG, J.; SINGH, A.K. Genetic control and geo-climate adaptation of pod dehiscence provide novel insights into soybean domestication. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, v. 10, n. 2, p. 545-554, 2020. <<https://doi.org/10.1534/g3.119.400876>>

ZHANG, Q.; TU, B.; LIU, C.; LIU, X. Pod anatomy, morphology and dehiscing forces in pod dehiscence of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. **Flora**, v. 248, p. 48-53, 2018. <<https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.08.014>>

ZHOU, F.; GUO, Y.; QIU, L.J. Genome-wide identification and evolutionary analysis of leucine-rich repeat receptor-like protein kinase genes in soybean. **BMC Plant Biology**, v. 16, n. 58, 2016. <<https://doi.org/10.1186/s12870-016-0744-1>>

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela Suplementar 1 - Genótipos (cultivares e linhagens) de soja utilizados para a realização dos experimentos.

(continua)

Genótipo	Evento transgênico	Grupo de Maturidade	Hábito de Crescimento
50i52 RSF IPRO (Raio)	Intacta	5.0	Indeterminado
55i57 RSF IPRO (Zeus)	Intacta	5.5	Indeterminado
57HO123 TP IPRO	Intacta	5.7	Indeterminado
5855 RSF IPRO (Elite)	Intacta	5.5	Indeterminado
58HO110 MM IPRO	Intacta	5.9	Indeterminado
58i60 RSF IPRO (Lança)	Intacta	5.8	Indeterminado
5953 RSF (Veloz)	Roundup Ready	5.0	Indeterminado
6211 IPRO	Intacta	-	-
6262 RSF IPRO	Intacta	-	-
63i64 RSF IPRO (Garra)	Intacta	6.3	Indeterminado
68i70 RSF IPRO (Ícone)	Intacta	6.8	Indeterminado
7166 RSF IPRO (Ponta)	Intacta	6.6	Indeterminado
73i70 RSF IPRO (Power)	Intacta	7.3	Indeterminado
74i77RSF IPRO	Intacta	7.2	Indeterminado
75HO111 CI IPRO	Intacta	7.2	Indeterminado
75i77 RSF IPRO (Ultra)	Intacta	7.6	Indeterminado
75i79 RSF IPRO	Intacta	7.3	-
76MS00 IPRO	Intacta	7.6	Indeterminado
8075 RSF (Prisma)	Intacta	7.5	Indeterminado
8077 RSF (Forte)	Roundup Ready	7.7	Indeterminado
80i84 RSF IPRO (Certa)	Intacta	8.0	Indeterminado
82MS00 IPRO	Intacta	8.2	Indeterminado
83HO113 TP IPRO	Intacta	8.3	Indeterminado
8579 RSF (Bônus)	Intacta	7.9	Indeterminado
9086 RSF (Opus)	Intacta	8.6	Determinado
ADV 4681 IPRO	Intacta	8.1	Determinado
ANTA 82	Roundup Ready	7.4	Semi determinado
AS 3570 IPRO	Intacta	5.7	Semi determinado
AS 3810 IPRO	Intacta	8.1	Determinado
AS 3820 IPRO	Intacta	8.2	Determinado
BMX Potência RR	Roundup Ready	6.7	Indeterminado
CD 2728	Intacta	7.2	Indeterminado
CD 2737	Roundup Ready	7.3	Indeterminado
DM 4338	Intacta	-	-
DM 4347	Intacta	-	-
DM 5.8i	Roundup Ready	5.5	Indeterminado
DM 53i54 RSF IPRO	Intacta	5.4	Indeterminado
DM 54i52 RSF IPRO	Intacta	5.4	Indeterminado
DM 61i59 RSF IPRO	Intacta	6.1	Indeterminado
DM 6563 RSF IPRO	Intacta	6.3	Indeterminado
DM 7.8i	Roundup Ready	-	Indeterminado

Tabela Suplementar 1 - Genótipos (cultivares e linhagens) de soja utilizados para a realização dos experimentos.

(continuação)

Genótipo	Evento transgênico	Grupo de Maturidade	Hábito de Crescimento
GDM 15A004	Roundup Ready	6.1	-
GDM 15C004	Convencional	8.0	-
GDM 15I010	Intacta	7.2	-
GDM 15I011	Intacta	7.5	-
GDM 15I012	Intacta	7.6	-
GDM 15I013	Intacta	7.8	-
GDM 15I014	Intacta	7.8	-
GDM 15I015	Intacta	7.8	-
GDM 15I016	Intacta	8.6	-
GDM 15I017	Intacta	8.5	-
GDM 15I018	Intacta	7.5	-
GDM 15I024	Intacta	5.3	-
GDM 15I027	Intacta	6.2	-
GDM 15I032	Intacta	6.0	-
GDM 15I033	Intacta	6.1	-
GDM 15I035	Intacta	6.2	-
GDM 15I041	Intacta	6.0	-
GDM 15I042	Intacta	6.0	-
GDM 15I050	Intacta	8.0	-
GDM 15I054	Intacta	9.0	-
GDM 15I075	Intacta	7.5	-
GDM 15I079	Intacta	8.4	-
IGRA 645 TR	Roundup Ready	6.2	-
L60150 IPRO	Intacta	5.0	Indeterminado
LG 60163 IPRO	Intacta	6.3	Semi determinado
M 5947	Intacta	5.9	Indeterminado
M 7739 IPRO	Intacta	7.7	Semi determinado
M 8133 IPRO	Intacta	8.1	Determinado
M 8349	Intacta	8.3	Determinado
M 8372	Intacta	8.3	Determinado
M 8644	Intacta	8.6	Determinado
M 8808	Intacta	8.8	Determinado
M-SOY 7639	Roundup Ready	7.6	Indeterminado
M-SOY 5730 IPRO	Intacta	5.7	Indeterminado
NA 7337	Roundup Ready	7.5	Semi determinado
NS 5727	Intacta	5.7	Indeterminado
NS 6006	Intacta	5.7	Indeterminado
NS 6909	Intacta	6.3	Indeterminado
NS 7300	Intacta	7.0	Indeterminado
NS 7490	Roundup Ready	7.4	Indeterminado
NS 7901	Roundup Ready	7.9	Indeterminado
P 95Y21	Convencional	5.2	-
P 95Y72	Roundup Ready	5.0	Indeterminado
P 98Y30	Roundup Ready	8.3	-

Tabela Suplementar 1 - Genótipos (cultivares e linhagens) de soja utilizados para a realização dos experimentos.

(conclusão)

Genótipo	Evento transgênico	Grupo de Maturidade	Hábito de Crescimento
RK 8317 IPRO	Intacta	8.3	Indeterminado
ROOS CAMINO	Convencional	5.3	Indeterminado
SYN 1080	Roundup Ready	8.0	-
SYN 1285	Roundup Ready	8.5	-
TMG 1179	Roundup Ready	7.9	Determinado
TMG 1180	Roundup Ready	8.0	Semi determinado
TMG 1288	Roundup Ready	8.8	Determinado
TMG 2181	Intacta	8.1	Determinado
TMG 4182	Convencional	8.2	Determinado
TMG 4185	Convencional	8.5	Determinado
TMG 4190	Convencional	9.0	Determinado
TMG 7062	Intacta	6.2	Semi determinado
TMG 7262	Roundup Ready	6.2	Semi determinado
TMG 7363	Roundup Ready	6.3	Indeterminado

CONCLUSÕES GERAIS

Este trabalho é inovador e apresenta os resultados de estudos iniciais da ocorrência de abertura de vagens imaturas em plantas de soja sob deficit hídrico. Com o desenvolvimento deste trabalho, conclui-se que o deficit hídrico influencia na porcentagem de vagens imaturas abertas em alguns genótipos de soja e, portanto, esse tratamento pode ser utilizado para a seleção de genótipos tolerantes. Embora esta característica seja dependente do genótipo utilizado, é fundamental atentar-se para as condições climáticas (principalmente a temperatura) e características do solo, que podem potencializar os efeitos do deficit hídrico e, conseqüentemente, na magnitude de ocorrência da abertura de vagens imaturas.

O volume dos grãos entre os estádios R5 e R6, a redução das estruturas da sutura ventral das vagens e a ação dos principais genes e proteínas relacionados aos marcadores identificados (ligados às respostas das plantas ao estresse e à atividade da beta-glucosidase) nos genótipos cultivados sob deficit hídrico, contribuiu para a abertura de vagens quando ainda estão verdes.