

MÁRIO DO CARMO ODA

Adaptabilidade de Produção e Análise Molecular, Genealógica e Morfológica de Cultivares de Soja

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

Viçosa
Minas Gerais – Brasil
2007

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

T

O22a
2007

Oda, Mário do Carmo, 1981-

Adaptabilidade de produção e análise molecular, genealógica e morfológica de cultivares de soja / Mário do Carmo Oda. – Viçosa, MG, 2007.

xi, 76f.: il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Tuneo Sedyama.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 67-76.

1. Soja - Genética. 2. Melhoramento genético - Modelos matemáticos. 3. Soja - Morfologia. 4. Cultivos agrícolas - Rendimento. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 633.342

MÁRIO DO CARMO ODA

Adaptabilidade de Produção e Análise Molecular, Genealógica e Morfológica de Cultivares de Soja

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

Aprovada: 19 de Dezembro de 2007.

Prof. Cosme Damião Cruz
Co - orientador

Dra. Márcia Flores da Silva

Prof. Múcio Silva Reis

Prof. Ney Sussumu Sakiyama

Prof. Tuneo Sedyama
Orientador

A Deus.

À minha mãe, Maria das Graças do Carmo Oda.

Ao meu pai, Mário Minolu Oda.

A minhas irmãs, Simone e Silvia.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, sobretudo.

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

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

A Capes, pela concessão do auxílio financeiro, possibilitando a realização deste trabalho.

Aos meus pais Mário e Maria da Graças, pelo apoio em todas as etapas de minha vida.

Ao professor, orientador e amigo Tuneo Sedyama, pela orientação, apoio e confiança desde o período de graduação e pela colaboração para o meu desenvolvimento intelectual e pessoal.

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

Ao professor Maurílio Alves Moreira, pela colaboração e incentivo na execução deste trabalho.

Aos demais professores do Curso de Agronomia e de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, pelos ensinamentos e conselhos.

À Dr. Marcia Flores da Silva, pela amizade, ensinamentos e valiosas sugestões.

Ao Newton Piovesan, pelas sugestões e ajuda para o desenvolvimento do trabalho.

Aos colegas de trabalho: Luis Henrique, Ricardo, Fábio, Éder, Éverton, Hélio, Ana Paula e Márcia pela amizade e ajuda.

A todos os amigos e colegas de universidade que, direta ou indiretamente, contribuíram para a conclusão deste trabalho.

Aos funcionários do laboratório de melhoramento de soja: Cupertino, Paulo Paiva, Paulinho, Custódio, Bernado e Adílio pela colaboração e agradável convivência.

À Celina Miki Fukuzawa, pela paciência, carinho e ajuda dedicados.

A todos os amigos que passaram pela república Baiacu.

BIOGRAFIA

Mário do Carmo Oda, filho de Maria das Graças do Carmo Oda e Mário Minolu Oda, nasceu em 05 de novembro de 1981, na cidade de Pindamonhangaba, no estado de São Paulo.

Em julho de 2005, graduou-se no curso Agronomia da Universidade Federal de Viçosa, na cidade de Viçosa, Minas Gerais.

Em agosto de 2005, iniciou o curso de Mestrado em Genética e Melhoramento, submetendo-se à defesa de tese em 19 de dezembro de 2007.

SUMÁRIO

Página

RESUMO	viii
ABSTRACT	x
1- INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Origem da soja.....	3
2.2. Interação genótipos X ambientes	3
2.3. Adaptabilidade e estabilidade.....	5
2.5. Marcadores moleculares	9
2.5.1. Marcadores RFLP	9
2.5.2. Marcadores RAPD e SCAR	10
2.5.3. Marcadores AFLP	11
2.5.4. Marcadores microssatélites (SSR).....	12
CAPÍTULO 1	14
Análise de Adaptabilidade e Estabilidade de Produção de Grãos em Linhagens de Soja Originadas pelo Método Descendente de uma Única Vagem por Planta	14
1. INTRODUÇÃO	15
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
2.1. Locais de condução dos experimentos de campo.....	18
2.2. Delineamento experimental	19
2.3. Cultivares e linhagens avaliadas	19
2.4. Avaliação da produtividade.....	20
2.5. Teste de comparação entre médias	20
2.6. Análises estatísticas.....	20
2.6.1. Método de Ebehart e Russell (1966)	21
2.6.2. Método de Annicchiarico (1992).....	22
2.6.3. Método de Lin e Binns (1988), modificado por Carneiro (1998)	23
2.6.4. Método do Centróide	24

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
3.1. Teste de comparação entre médias.....	26
3.2. Análise de variância conjunta.....	30
3.3. Adaptabilidade e estabilidade.....	31
4. CONCLUSÕES.....	41
CAPÍTULO 2.....	42
Diversidade Genética em soja utilizando caracteres fenotípicos e moleculares.....	42
1. INTRODUÇÃO.....	43
2. MATERIAL E MÉTODOS	46
2.1. Material genético	46
2.2. Extração de DNA.....	46
2.3. Marcadores SSR e condições de amplificação.....	47
2.4. Estimativa do coeficiente de parentesco (CP).....	48
2.5. Análise dos dados	48
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4. CONCLUSÕES.....	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67

RESUMO

ODA, Mário do Carmo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2007. Adaptabilidade de produção e análise molecular, genealógica e morfológica de cultivares de soja. Orientador: Tuneo Sedyama. Co-orientadores: Cosme Damião Cruz e Maurílio Alves Moreira.

Nos programas de melhoramento de soja as cultivares, antes de serem lançadas, são avaliadas em vários locais e por pelo menos dois anos para a tomada de decisão sobre a sua indicação. O aumento de registro de novas cultivares no Brasil e no mundo vêm obrigando pesquisadores a utilizarem informações a nível de diversidade genética para tomar a decisão correta em seu programa de melhoramento. Este trabalho teve como objetivos avaliar a estabilidade e adaptabilidade do rendimento de grãos de linhagens elites do Programa de Melhoramento Genético de Soja da Universidade Federal de Viçosa, utilizando diferentes métodos de adaptabilidade e estabilidade, quantificar a contribuição genética de cultivares antigas em cultivares recentes que apresentam alguma ancestralidade, selecionar um conjunto de primers microssatélites capazes de diferenciar 21 cultivares, obter informações de caráter de diversidade para a utilização no melhoramento, realizar associação da diversidade estimada com base em informações fenotípica, de genealogia e de marcadores moleculares e estimar a distância genética entre as 21 cultivares. Os ensaios para estudo de estabilidade e adaptabilidade foram conduzidos em cinco diferentes ambientes e em dois anos agrícola. As seguintes metodologias foram utilizadas: método de Ebehart e Russell, de Annicchiarico, de Lin e Binns e do Centróide. Para o estudo de diversidade foram utilizadas 21 cultivares provenientes de diferentes programa de melhoramento, adaptadas a diferentes regiões do Brasil e do mundo e com diferentes períodos de lançamento. Um total de 41 marcadores microssatélites foram utilizados no trabalho. Matrizes de dissimilaridade utilizando coeficiente de parentesco, valores fenotípicos e moleculares foram obtidas. Para a realização da análise de agrupamento foram utilizados

os métodos de UPGMA e de otimização de Tocher. As cultivares do grupo de maturidade semitardio-tardio Monarca, UFV01-10533486B e UFV99-722F626 foram as que apresentaram ampla adaptabilidade e estabilidade e as cultivares do grupo de maturidade tardio UFV99-8552093 e UFV91-651226 foram as que destacaram em produtividade, adaptabilidade e estabilidade para os ambientes em geral. Os 41 marcadores microssatélites utilizados amplificaram um total de 106 alelos com uma média de 2,52 alelos por loco, sendo que destes 37 mostraram-se polimórficos. A estimativa da informatividade de cada loco microssatélite variou de 0 a 0,68 com uma média de 0,38. Os primers Satt 263, Satt 192, Satt 070 e Sct_ 189 foram os que apresentaram um maior polimorfismo com 5, 4, 4 e 4 alelos por loco, respectivamente. As medidas de dissimilaridade média dos pares de cultivares obtidas por marcadores microssatélites foi de 0,4 a 0,6, por coeficiente de parentesco em torno de 0,8 a 1,0 e por caracteres fenotípicos em torno de 0,2 a 0,4. Constatou-se que dentro do grupo de cultivares utilizado a variabilidade genética manteve a mesma ao longo de quase 40 anos de melhoramento. A combinação dos 6 primers microssatélites Satt 192, Satt 263, Satt 070, Satt 100, Satt 108 e Satt 215 foi possível diferenciar as 21 cultivares. Com as análises de diversidade realizadas foi possível afirmar que dentre as cultivares consideradas como recentes ainda existe uma variabilidade genética útil ao melhoramento de plantas e a cultivar Conquista foi a que apresentou a maior dissimilaridade quando combinada com as outras.

ABSTRACT

ODA, Mário do Carmo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2007.
Adaptability of Production and Molecular Analysis, Genealogical and Morphology of Soybeans Cultivars. Adviser: Tuneo Sedyama. Co-advisers: Cosme Damião Cruz and Maurílio Alves Moreira.

In the improvement programs of soybean the cultivars, before being planted, are evaluated in several places and at least through two years for the decision about its indication be taken. The increases in the registration of new cultivars in Brazil and in the world are obligating researchers to utilize information about the genetic diversity to take the correct decision in its improvement program. This work had as objectives evaluate the stability and adaptability of the yielding of beans of elite's lineages of the Soybean Genetic Improvement Program of Universidade Federal de Viçosa, utilizing different methods of adaptability and stability, quantifying the genetic contribution of old cultivars in recent cultivars which present any ancestry, selecting a set of microsatellites primers capable of differentiate 21 cultivars, obtaining information about the diversity for the utilization in the improvement, performing the association of the estimated diversity based in phenotypic, genealogic and molecular markers information and estimate the genetic distance among the 21 cultivars. The tests about the study of the stability and adaptability were conducted in five different environments and in two agricultural years. The following methodologies were utilized: Ebehart and Russell method, Annicchiarico method, Lin and Binns method, and the centroid method. For the study about diversity it were utilized 21 cultivars from different improvement programs, adapted to different regions of Brazil and of the world and with different periods of planting. A total of 41 micro-satellites markers were utilized in the work. Matrices of dissimilarities utilizing kinship coefficient, phenotypic and molecular values were obtained. For the performing of the grouping analyses it was utilized the UPGMA method and the optimization Tocher method. The cultivars of the semi-late and late maturity groups Monarca, UFV01-10533486B and UFV99-722F626

were the ones which presented wide adaptability and stability and the cultivars of the late maturity groups UFV99-8552093 and UFV91-651226 were the ones which presented good productivity, adaptability and stability for the environments in general. The 41 microsatellites markers utilized amplified a total of 106 alleles with an average of 2,52 alleles per locus and 37 of these presented itself as polymorphic. The estimative of the information of each microsatellite locus varied from 0 to 0,68 with an average of 0,38. The primers Satt 263, Satt 192, Satt 070 e Sct_189 were the ones which presented a higher polymorphism with 5, 4, 4 and 4 alleles per locus, respectively. The measurements of average dissimilarities of the cultivar pairs obtained by microsatellites markers was of 0,4 to 0,6 per coefficient of kinship around 0,8 to 1,0 and per phenotypic characters around 0,2 to 0,4. It was confirmed that within the group of cultivars utilized the genetic variability kept the same throughout almost 40 years of improvement. The combination of the 6 micro-satellites primers Satt 192, Satt 263, Satt 070, Satt 100, Sat 108, and Satt 215 was possible differentiate the 21 cultivars. With the analyses of diversity performed it was possible affirm that amongst the cultivars considered as recent there is still a useful genetic variability to the improvement of plants and the cultivar Conquista was the one which presented the highest dissimilarity when combined with others.

1- INTRODUÇÃO GERAL

Atualmente a soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é a oleaginosa mais cultivada no mundo e um dos mais importantes produtos agrícolas da economia brasileira. Sua enorme importância deve a facilidade de seu cultivo e a ampla aplicabilidade de seus compostos, apresentando teores de proteína e óleo em torno de 40% e 20%, respectivamente (Sediyama *et al.*, 1996; Embrapa 2005).

Com uma área de 20,654 milhões de hectares na safra 2006/2007 o Brasil apresentou estimativa de produção de 58,020 milhões de toneladas e produtividade de 2.809 Kg/ha, o que manteve o país como o segundo maior produtor e exportador de soja do mundo (Conab, 2007).

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

Assim, o sucesso para implantação de uma lavoura depende, dentre outros fatores, da escolha da cultivar, considerando que existe diferença no desempenho de acordo com a região.

Os programas de melhoramento genético de plantas têm como principal objetivo a obtenção de cultivares com elevada produtividade, com características agrônômicas consistentemente superiores e responsivos, estáveis e adaptadas frente às variações ambientais. Para isso recomenda-se a utilização de métodos que permitem avaliar a capacidade genética de adaptação e de desempenho das cultivares nos programas de melhoramento (Bonato, 1978).

O termo ambiente pode ser interpretado, no melhoramento, como uma série de condições sob as quais as plantas crescem, podendo envolver locais, épocas, anos, práticas culturais ou de manejo, ou a combinação de todos esses fatores (Rocha, 2002).

Para haver a possibilidade de realizar seleção e assim obter linhagens com boas características é necessário primeiramente utilizar parentais que contenha o(s) gene(s) das características desejadas e utilizar, se possível, parentais divergentes. De acordo com Hiromoto e Vello (1986), a base genética do melhoramento de soja está se estreitando nas últimas décadas, devido à utilização de progenitores com parentesco em comum, tornando os novos cultivares mais semelhantes.

Desta forma, em razão do grande número de cultivares existentes, do grande número de cultivares que são lançadas todos os anos e da ocorrência mais freqüente de similaridades no momento de realizar o registro de novas cultivares junto ao Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), vem a justificar a realização deste trabalho.

O trabalho tem como objetivos a utilização de marcadores moleculares microssatélites em um conjunto de cultivares que apresentam genealogia em comum, e assim, realizar inferências quanto a diversidade e a relação entre materiais antigos e recentes; e também identificar dentre as cultivares desenvolvidas pelo Programa de Melhoramento Genético da Soja do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa as que apresentam melhor estabilidade de produção.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Origem da soja

A soja é espécie autógama, herbácea, anual, ereta, de crescimento morfológico diversificado e se diferencia de outras espécies semelhantes pelas hastes e vagens pubescentes, pertencente à classe *Dicotyledoneae*, família *Leguminosinae*, gênero *Glycine*, subgênero Soja e espécie *Glycine max* (L.) Merrill (Sedyama *et al.*, 1985). Evidências históricas e geográficas indicam que a espécie foi domesticada no século XI d.C. no Nordeste da China, e que seu provável lugar de origem seja o Vale do Rio Amarelo (Xu *et al.*, 1989). Apresenta número de cromossomos igual a $2n = 40$, representando um tetraplóide diploidizado, ou seja, um poliplóide que se comporta citologicamente como um diplóide (Hymowitz *et al.*, 1997).

Domesticada em latitudes compreendidas entre 35° e 45°, na região da Manchúria, a soja foi disseminada posteriormente para a Europa, América do Norte e América do Sul. No Brasil foi introduzida no estado na Bahia em 1882, seguindo para o estado de São Paulo e depois para o Sul do país, onde encontrou bioclima favorável ao seu desenvolvimento semelhante as regiões tradicionais de cultivo (Verneti, 1983; Sedyama *et al.*, 1996). A partir de 1970, passou a ser cultivada em grandes extensões, levando o país ao segundo lugar no contexto mundial em produção de soja (Hiromoto e Vello, 1986).

2.2. Interação genótipos X ambientes

A resposta fenotípica é resultante da ação conjunta do genótipo, do ambiente e da interação entre genótipos e ambientes (G x A) (Allard, 1971). Esse último componente reflete as diferentes sensibilidade dos genótipos às variações ambientais (Falconer &

Mackay, 1996), resultando em mudanças no desempenho relativo dos genótipos (Fehr, 1987).

A interação genótipos x ambientes pode ser definida como a alteração no desempenho relativo dos genótipos em virtude de diferenças de ambiente. Todos os fatores que afetam o desenvolvimento das plantas que não são de origem genética, podendo envolver locais, regiões, épocas, anos, práticas culturais ou de manejo, ou a combinação de todos esses fatores, constituem o ambiente (Romagosa & Fox, 1993; Borém, 1997).

Em um programa de melhoramento é freqüente a realização de testes de genótipos em diferentes locais e anos, sendo que o comportamento destes não são constantes nos diferentes ambientes. Essa inconsistência no comportamento dos cultivares frente às variações ambientais gera a interação genótipos x ambientes que, quando significativa, pode indicar a existência de genótipos específicos para determinados ambientes, (Eberhart & Russell, 1966), sendo estes classificados em previsíveis e imprevisíveis segundo Allard e Bradshaw (1964). Fehr (1987) comenta que as variáveis imprevisíveis são as que mais contribuem para as interações genótipos x anos e genótipos x locais x anos.

Para que a interação genótipos x ambientes possa ser detectada, é necessário que os diferentes genótipos sejam avaliados em dois ou mais ambientes contrastantes (Arias, 1996).

Existem pelo menos três opções possíveis para atenuar ou minimizar os efeitos da interação genótipos x ambientes: a identificação de cultivares específicos para cada ambiente; a realização de zoneamento ecológico; e a identificação de cultivares com maior estabilidade fenotípica, o que mais tem sido realizado nos últimos anos (Ramalho *et al.*, 1993).

Devido a importância da interação genótipos x ambientes, cabe aos melhoristas avaliarem a sua magnitude e significância, quantificar o efeito das técnicas de melhoramento e estratégias de difusão de tecnologias e fornecer subsídios que possibilitem adotar procedimentos de minimização e aproveitamento, como a desistência, ou não, da instalação de ensaios em determinado local, em razão de problemas técnicos ou de escassez de recursos (Cruz e Regazzi, 1997; Carneiro, 1998).

Arantes (1979), baseando-se em revisão de literatura, concluiu que entre os melhoristas de plantas existe consenso de que as interações genótipos x ambientes devam ser consideradas na seleção de genótipos superiores no programa de melhoramento.

A interação genótipos x ambientes deve ser vista, não como um problema, cujos efeitos devem ser minimizados em um programa de melhoramento, mas sim, como um fenômeno biológico natural, o qual cumpre conhecê-la bem, para melhor aproveitá-la no processo de seleção (Chaves, 2001).

2.3. Adaptabilidade e estabilidade

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

Adaptabilidade e estabilidade apesar de serem termos relacionados, não devem ser considerados como um só. Segundo Mariotti *et al.* (1976), citado por Mauro (1991), adaptabilidade é a capacidade potencial das cultivares de responderem vantajosamente aos estímulos ambientais, já a estabilidade é a capacidade de uma cultivar exibir um desempenho o mais constante possível, em função de variações na qualidade ambiental. Cruz e Regazzi (1997) conceituam estabilidade como a capacidade de as cultivares mostrarem um comportamento altamente previsível em função do estímulo ambiental.

Kiihl e Almeida (2000) afirmaram que uma boa variedade de soja deve ter alta produtividade e estabilidade de produção nos mais variados ambientes possíveis. Os autores ressaltam ainda que a estabilidade é conferida pela introdução de resistência as doenças, aos nematóides e aos insetos e pela introdução de características agronômicas especiais como tolerância aos solos ácidos, penetração profunda de raízes e alta qualidade fisiológica de sementes, proporcionando a planta maior tolerância aos fatores adversos que podem comprometer a produção.

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

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

Há vários métodos para estimar estabilidade e adaptabilidade e a escolha do método dependerá dos dados experimentais, do número de ambientes disponíveis, da precisão requerida e do tipo de informação desejada (Cruz e Regazzi, 1997). Os métodos mais comumente utilizados são os seguintes: o Tradicional, e os propostos por Plaisted e Peterson (1959), Finlay e Wilkinson (1963), Wricke (1965), Eberhart e Russell (1966), Tai (1971), Verma *et al.* (1978), Silva e Barreto (1985), Lin e Binns (1988), Cruz *et al.* (1989), Huehn (1990), Annicchiarico (1992), Murakami (2001) e o método baseado em componentes principais/centróide.

Comparações entre os métodos são, de certa forma, impróprias, visto que os métodos, em sua maioria, empregam procedimentos estatísticos específicos e alguns são modificações de outros anteriores, podendo ser alternativos, ou então complementares (Cruz e Regazzi, 1997).

Sedyama *et al.*, (1990) consideram que devem ser realizados estudos criteriosos de adaptabilidade e estabilidade de produção de soja, para garantir maior segurança às recomendações de cultivares.

2.4. Diversidade genética

A diversidade genética tem sido utilizada como uma ferramenta para identificar as melhores combinações híbridas, estudar a evolução das plantas, identificar um conjunto gênico mais amplo e a viabilidade de cruzamentos (Miranda, 1998).

Hiromoto e Vello (1986) afirmam que no melhoramento genético da soja o ganho genético tem sido acompanhado de uma erosão genética, devido ao estreitamento da base genética. A diversidade genética que era quantificada por meio de análises dialélicas, atualmente tem sido quantificada com maior frequência utilizando ferramentas moleculares.

Estudos realizado por pesquisadores americanos revelou que a diversidade genética entre as variedades comerciais de soja, nos Estados Unidos da América, é devida, somente, a onze progenitores como fonte principal da contribuição genética (National, 1972). Posteriormente Specht e Willians (1983) relataram que somente cinco progenitores contribuíram para o citoplasma das variedades norte americanas.

Gizlice *et al.*, (1993) citam que, nos EUA, a base genética da produção sojícola é constituída de pouco mais de 15 progenitores e resultados de diversidade genética tem sido interpretados erroneamente, uma vez que o número de marcadores empregados nessas análises podem não estar distribuídos nos grupos de ligação em soja. As características quantitativas são, potencialmente, úteis para evitar este problema, pois envolvem grande número de genes.

Maughan *et al.*, (1996) afirmam que o baixo nível de diversidade genética, detectada por marcadores moleculares convencionais como RFLP e RAPD, é devido a ausência de um mapa intra-específico da soja com extensiva caracterização genética. No entanto, por meio de marcadores microssatélites tem sido detectado alto número de marcadores polimórficos.

Smith *et al.* (1994), utilizando marcadores AFLP, verificaram maiores valores de diversidade genética na soja selvagem que na cultivada. Observaram também que as variedades de soja eram muito similares, indicando baixa diversidade genética.

No Brasil, Hiromoto e Vello (1986) determinaram a base genética do germoplasma da soja cultivada e compararam o grau de similaridade do germoplasma brasileiro com o norte americano. Utilizando o coeficiente de parentesco de Malecot, os autores identificaram 26 ancestrais do terceiro ciclo do melhoramento brasileiro da soja, sendo que 11 progenitores contribuíram, com 89% do conjunto gênico das variedades brasileiras e que seis destes são, também, os mais freqüentes nas variedades norte americanas. Concluíram que existe a necessidade de aumentar a base genética das

variedades brasileiras a fim de evitar a vulnerabilidade genética do germoplasma e, assim, aumentar ainda mais a produção.

Abdelnoor *et al.*, (1995) avaliaram a diversidade de 38 variedades brasileiras de soja, por marcadores RAPD separaram as variedades em cinco subgrupos, que apresentaram concordância com os resultados obtido pelo coeficiente de parentesco.

Baranek *et al.*, (2002) utilizando marcadores RAPD para avaliar a diversidade genética de 19 acessos da Coleção Nacional da República Tcheca, concluíram que houve a possibilidade de selecionar indivíduos geneticamente distintos para serem utilizados como fontes genéticas no programa de melhoramento.

Chen e Nelson (2005) utilizaram marcadores RAPD, estimaram a variância genética de cultivares de soja primitivas dentro e entre quatro províncias geograficamente distintas na China e determinaram a relação entre a origem geográfica e a diversidade genética. Verificaram diferença genética significativa nos cultivares de todos os pares de províncias, e a existência de acessos, provenientes de uma única província, comuns entre os seis grupos formados.

Miranda *et al.*, (2007), utilizando um grupo de 90 cultivares elites, adaptadas a diferentes regiões do Brasil, estimaram o coeficiente de parentesco para entender a estrutura genética dessas cultivares. Verificaram baixo tamanho populacional efetivo (N_e) e alto coeficiente de parentesco, indicativos de alta similaridade entre as principais cultivares brasileiros.

Bodanese-Zanettini *et al.*, (1996) afirmam que um dos meios para introdução de novos alelos nas variedades de soja brasileiras, consiste em utilizar parentes exóticos, principalmente do subgrupo Glycine.

Vello *et al.* (1984) recomendam, para aumentar a base genética do germoplasma da soja, a realização de cruzamentos entre variedades adaptadas e geneticamente divergentes com genótipos exóticos.

2.5. Marcadores moleculares

2.5.1. Marcadores RFLP

O primeiro tipo de marcador do DNA utilizado no melhoramento de plantas foi o RFLP. Nessa técnica, o DNA total de um indivíduo é inicialmente isolado e clivado com enzimas de restrição. Os fragmentos obtidos são separados por eletroforese e transferidos para uma membrana de celulose ou náilon. Em seguida, fragmentos específicos podem ser detectados pela incubação da membrana com uma sonda previamente marcada (radioativamente ou a frio). Sonda é uma seqüência de DNA (normalmente da própria espécie em estudo) que irá, por complementaridade entre as bases nitrogenadas, parear com um ou mais dos fragmentos contidos na membrana. A posição da membrana onde a sonda hibridiza pode ser determinada por autorradiografia. O polimorfismo entre diferentes indivíduos decorre de variações nas seqüências primárias dos sítios de restrição ou na mudança de suas posições relativas devido a inserções e/ou deleções. As dificuldades inerentes à técnica, o grande número de etapas e o uso, em muitos casos de sondas radioativas, dificultam que o RFLP seja extensivamente utilizado no melhoramento.

Diers *et al.* (1992) procuraram identificar marcadores moleculares do tipo RFLP em soja para seis locos de *Phytophthora sojae* (Rps1, Rps2, Rps3, Rps4, Rps5 e Rps6), os quais conferem, cada um, resistência a uma raça específica do patógeno. Foram identificados marcadores RFLP para cinco dos seis locos (Rps1, Rps2, Rps3, Rps4 e Rps5). Os autores descobriram também que o loco Rps2 está ligado ao loco Rj2, o qual está associado à alta eficiência de nodulação.

Trabalhando também com marcadores RFLP, Concibido *et al.* (1994) identificaram dois marcadores (pA85 e pB32), não ligados entre si, associados com a resistência à raça 3 do nematóide do cisto da soja (*Heterodera glycines*); juntos, estes explicam 51,7% da variação genotípica em torno desse caráter.

Diversos outros trabalhos já foram realizados em soja utilizando marcadores RFLP: construção de mapas genéticos (Keim *et al.*, 1990); identificação de marcadores

associados ao conteúdo de ácidos graxos (Diers e Shoemaker, 1992); e estudo de diversidade genética em genótipos de soja (Keim *et al.*, 1989; Ingey *et al.*, 1991).

2.5.2. Marcadores RAPD e SCAR

A tecnologia da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) foi definida em meados dos anos 80 (Mullis e Faloona, 1987; Saiki *et al.*, 1985). A facilidade, rapidez, versatilidade e sensibilidade da PCR tornaram-na verdadeiramente poderosa para estudos genético-moleculares. Dela derivou um tipo de marcador molecular informado por dois grupos independentes nos anos 90, Williams *et al.* (1990) o denominaram de RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) e Welsh e Maclelland (1990) o denominaram AP-PCR (*Arbitrarily-Primer PCR*). A primeira denominação tornou-se mais conhecida.

Marcadores do tipo RAPD detectam seqüências polimórficas num ensaio de amplificação de DNA usando somente um iniciador de seqüência arbitrária. Nessa reação, seqüências únicas de iniciadores se unem em dois sítios diferentes em filas opostas do DNA-molde. Se esses sítios estão a uma distância amplificável, uma população de fragmentos de diferentes tamanhos é formada durante a amplificação. O número e o tamanho dos produtos de amplificação dependem, essencialmente, da seqüência do iniciador e do DNA-molde usado.

Os marcadores têm sido amplamente usados em estudos de mapeamento, identificação de locos, clonagem baseada em mapas, caracterização de cultivares (fingerprinting) e seleção assistida por marcadores (SAM). Marcadores RAPD têm sido utilizados na identificação de polimorfismos ligados a locos de resistência à doenças em feijoeiro (Cardoso e Arruda, 1998), em alface (Paran e Michelmore, 1993) em tomate (Martin *et al.*, 1991) e em soja (Silva, 1998; Schuster, 2001).

Existem, entretanto, alguns fatores que limitam a sua aplicação, como o baixo conteúdo de informação por loco; desconhecimento da base genética dos fragmentos de DNA amplificadas; e por serem marcadores dominantes, não permite a distinção entre homozigotos e heterozigotos. Um segundo problema apresentado por esses marcadores é a baixa reprodutibilidade dos dados. No entanto, diferentes laboratórios motivados pela

sensibilidade do RAPD têm superado esse efeito, padronizando as condições técnica (Yu *et al.*, 1993). Atualmente, é possível aumentar a utilidade e a reprodutibilidade de um marcador RAPD de interesse, convertendo-o em um marcador mais específico e reprodutível, denominado SCAR – *Sequence Characterized Amplified Regions* (Melotto *et al.*, 1996).

2.5.3. Marcadores AFLP

O AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphisms*) é uma classe de marcadores, que alia a especificidade dos sítios de restrição do RFLP à praticidade da amplificação do PCR (Vos *et al.*, 1995). A técnica baseia-se na digestão simultânea do DNA genômico com duas enzimas de restrição, sendo EcoRI e MseI as mais usadas. Adaptadores específicos, com terminais complementares às extremidades coesivas dos sítios de restrição, são ligados aos fragmentos de DNA digeridos. São utilizados dois adaptadores específicos, sendo um para cada sítio de restrição. Os fragmentos digeridos e com os adaptadores ligados a eles são submetidos a uma reação de PCR com *primers* pré-seletivos cuja seqüência é complementar à dos adaptadores, acrescidos de um nucleotídeo arbitrário na sua extremidade 3'. A detecção dos fragmentos polimórficos é feita em géis de seqüenciamento utilizando um dos *primers* seletivos marcados com radiotatividade ou com fluorescência.

Uma das vantagens do AFLP é o grande poder de detecção de variabilidade genética, uma vez que a técnica explora polimorfismos de restrição e de amplificação. Desta forma, são resolvidos um grande número de fragmentos polimórficos em um único gel de seqüenciamento. Como os *primers* utilizados nas etapas de amplificação são longos, em torno de 20 pb, a especificidade das reações é aumentada significativamente, quando comparada com o RAPD. Assim, o AFLP alia a vantagem de explorar regiões genômicas arbitrárias, sem a necessidade do conhecimento prévio das seqüências do DNA, com a elevada especificidade da técnica de PCR. Uma das limitações do AFLP é o baixo conteúdo de informação genética por loco e são marcadores essencialmente dominantes. Como o AFLP é realizado em várias etapas, incluindo a digestão do DNA com enzimas de restrição, é uma técnica mais trabalhosa, necessitando de DNAs

genômicos de alta qualidade e de um maior número de reagentes, o que a torna também mais cara. Outro fato que contribui para aumentar a complexidade do AFLP é que a resolução dos polimorfismos precisa ser realizada em géis de seqüenciamento utilizando radioatividade ou fluorescência e nem todos os laboratórios estão capacitados para trabalharem com tais metodologias.

2.5.4. Marcadores microssatélites (SSR)

Nakamura *et al.* (1987) determinaram que locos de seqüências de DNA repetidas em série e de número variável – VNTR (*Variable Number Tandem Repeat*) poderiam ser usados como marcadores genéticos altamente informativos. Esses locos multialélicos foram denominados por Jeffreys *et al.* (1985) como minissatélites e como repetições de seqüências flanqueadas por sítios de restrição altamente conservados. Três anos depois, Jeffreys *et al.* (1988) sugeriram que a natureza altamente informativa dos locos VNTR fosse combinada com a especificidade e rapidez da reação de PCR. Assim, foram usados iniciadores para as regiões conservadas que flanqueiam os locos de VNTR, permitindo suas ampliações. A mobilidade dos fragmentos amplificados em géis de agarose ou poliacrilamida difere de acordo com o número de unidades repetidas no loco VNTR. As unidades que se repetem foram inicialmente identificadas em humanos, como repetições em série de nucleotídeos (GA/CT)_n, que se repetem no genoma humano aproximadamente 50,000 vezes, com 'n' variando entre 10 e 60, esse tipo de seqüência repetida foi denominado SSR (*Simple Sequence Repeat*) por Jacob *et al.* (1991) ou, microssatélites por Litt e Luty (1989).

Tendo em vista alto grau de polimorfismo e o nível informativo apresentados por essas seqüências, Akkaya *et al.* (1992) conduziram experimentos em soja, para verificar a freqüência, na natureza, de polimorfismo e o modo de herança dos SSR. O polimorfismo apresentado foi considerado bom, tendo em média sete alelos por par de *primers*, que, juntamente com sua herança mendeliana e sua condição de co-dominante, tornaram os SSR marcadores que podem ser utilizados em complementação com outros, como o RFLP ou RAPD. Os níveis informativos dos SSR os tornam marcadores extremamente úteis para a soja, devido à sua estreita variabilidade genética. Ao contrário

do que foi detectado em humanos, cujas seqüências centrais dos SSR são $(GA/CT)_n$ em soja foram detectadas as seqüências $(AT)_n/(TA)_n$ e $(ATT)_n/(TAA)_n$, as quais se repetem em *tandem* de 2 a 5 pares de bases, formando o centro da seqüência.

Os microssatélites são preferidos sobre outros marcadores moleculares baseados na reação de PCR, por serem co-dominantes e os dados serem altamente reprodutíveis. Na seleção assistida, eles são de fácil aplicação e de baixo custo, possibilitando a análise de milhares de genótipos rapidamente (Mudge *et al.*, 1997).

Marcadores microssatélites já foram utilizados para mapeamento de genes de resistência ao NCS em soja (Concibido *et al.*, 2004) e genes que controlam o número de dias para floração (Li e NIWA, 1996). Os SSR também foram utilizados como marcadores para a distinção inequívoca de diferentes cultivares de soja (Rongwen *et al.*, 1995). Cregan *et al.* (1999) publicaram um mapa genéticos de soja, resultado da integração de três mapas genéticos gerados pela Universidade Federal de Iowa, Universidade de Utah e Universidade de Nebraska. Este mapa consenso possui 20 grupos de ligação formados por 1004 marcadores moleculares entre SSR, RFLP, RAPD e isoenzimas. Devido ao grande número de SSR posicionados, 406 pares ao todo, este mapa mostrou ser muito útil para flaquear os QTLs mapeados, permitindo a comparação de mapas genéticos obtidos com diferentes germoplasmas, baseados no pressuposto de que os SSRs são altamente conservados.

Atualmente, muitas espécies de plantas já dispõem de um conjunto de marcadores microssatélites para utilização em estudos genéticos, entre elas a soja. Em soja Charlson *et al.* (2005), trabalhando com população endogâmica derivada do cruzamento entre Pioneer 925 e A97-770012, identificaram três marcadores microssatélites, Satt211, Satt481 e Satt010 associados à clorose por deficiência de ferro.

Silva *et al.* (2001), estudando populações resultantes de um cruzamento entre cultivares de soja resistente e suscetível a *M. javanica*, encontraram um marcador microssatélite, SOYHSP 176, que mostrou associação significativa com o número de galhas. Este marcador encontra-se no grupo de ligação F, e está associado entre os marcadores de RFLP, A186D e A757V.

CAPÍTULO 1

Análise de Adaptabilidade e Estabilidade de Produção de Grãos em
Linhagens de Soja Originadas pelo Método Descendente de uma Única
Vagem por Planta

1. INTRODUÇÃO

Atualmente a soja é cultivada de norte a sul e leste a oeste do Brasil, em áreas de alta a baixa latitude, totalizando mais de 20 milhões de hectares e uma produção estimada em mais de 57 milhões de toneladas na safra 2007, onde encontra considerável diversidade de ambientes. No Estado de Minas Gerais, o quarto maior estado produtor de soja do país, cultiva-se mais de 2 milhões de hectares, representando fator de grande importância econômica e social (CONAB, 2007). Nesse contexto, a obtenção de variedades produtivas, estáveis e adaptadas assume papel fundamental na maioria dos programas de melhoramento.

Em todos os programas de melhoramento de soja as cultivares, antes de serem lançadas, são avaliadas em vários locais e por pelo menos dois anos para a tomada de decisão sobre a sua indicação, mas essa decisão é normalmente dificultada pela interação genótipos x ambientes.

Respostas diferenciais de genótipos em diferentes ambientes são freqüentes e relevantes no contexto do melhoramento. O entendimento da interação genótipos e ambientes torna-se imprescindível aos programas de melhoramento que buscam minimizar a inconsistência das características relacionadas à produtividade diante da variação ambiental, para recomendações mais acertadas (Duarte e Vencovsky, 1999).

A interação genótipo x ambiente deve ser observada como um fenômeno biológico em suas implicações no melhoramento de plantas e não como simples efeito estatístico, visando buscar a explicação do fenômeno para obter proveito de seus efeitos benéficos, bem como para contornar seus efeitos indesejáveis sobre a avaliação de genótipos e recomendação de cultivares. A reação diferencial às mudanças ambientais pode ocorrer devido a diferenças de constituição gênica para os caracteres importantes

nessa adaptação, a mecanismos de regulação gênica e até caracteres morfológicos finais (Chaves, 2001).

O conhecimento do comportamento ou adaptabilidade de cultivares a determinados ambientes é de grande importância para a avaliação do valor agrônomo das cultivares, tanto para os produtores de sementes como para os de grãos. A estabilidade da produtividade, em grande amplitude de condições ambientais, tem sido relevante para avaliar o potencial genético das cultivares, pois, permite a identificação de cultivares de comportamento previsível e que respondam às variações ambientais, em condições específicas ou amplas. Amplos esforços devem ser feitos no sentido de identificar genótipos que possuam alta estabilidade e ampla adaptabilidade ou com o comportamento previsível para produção em diversos ambientes (Murakami *et al.*, 2004).

Existem, diversos estudos sobre adaptabilidade e estabilidade tendo o intuito de amenizar os efeitos da interação genótipos x ambientes em soja (Alliprandini *et al.*, 1998; Miranda *et al.*, 1998; Rocha e Vello, 1999; Di Mauro *et al.*, 2000; Rocha, 2002; Ampessan, 2003; Azevedo, 2004).

Diversos métodos têm sido propostos para estudo da estabilidade, sendo que a diferença entre os métodos origina-se nos próprios conceitos da estabilidade e nos procedimentos biométricos empregados para medi-la. Os métodos baseados em ANOVA são: tradicional Plaisted & Peterson (1959), Wricke (1965) e Annicchiarico (1992); Os métodos propostos por Finlay & Wilkinson (1963), Eberhart & Russell (1966) e Tai (1971) são baseados em regressão; Métodos baseados em regressão bisegmentada foram propostos por Verma *et al.* (1978), Silva & Barreto (1986) e Cruz *et al.* (1989). Os métodos de Lin E Binns (1988) e Huehn (1990) são baseados em análises não paramétricas. Finalmente o método Murakami & Cruz (2001) é baseado em análise de fatores e centróide, método baseado em componentes principais.

O método de Eberhart & Russell (1966) considera a cultivar ideal aquela que tem produção média alta, coeficiente de regressão unitário e desvio de regressão praticamente nulo, isto é, aquele desvio que tem resposta positiva à melhoria das condições ambientais ($\beta_1 = 1,0$), e comportamento altamente previsível ($\sigma^2_{di} = 0,0$).

A metodologia proposta por Annicchiarico (1992) considera as cultivares mais estáveis para ambientes geral, favorável ou desfavorável aquelas que estiverem

associadas aos maiores valores do índice de recomendação (ω_i), ou seja, aquelas cultivares com valores de média alto e variação do comportamento nos vários ambientes baixo.

Lin & Binns (1988) definiram, como medida para estimar a performance genotípica (P_i), o quadrado médio da distância entre a média da cultivar e a resposta média máxima para todos os ambientes. Para que a recomendação de cultivares atenda às necessidades de se identificar cultivares superiores nos grupos de ambientes favoráveis e desfavoráveis, Carneiro (1998) propôs a decomposição do estimador (P_i), nas partes devido a ambientes favoráveis (P_{if}) e desfavoráveis (P_{id})

A análise baseada em componentes principais/centróide foi desenvolvida para facilitar a recomendação de cultivares estáveis a determinados ambientes. Por técnicas de agrupamento, baseada em distâncias aos referenciais (ou ideótipos), procura-se classificar as diferentes cultivares estudadas em quatro referenciais, cultivares de adaptabilidade geral, de adaptabilidade específica a ambientes favoráveis, de adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis e de desempenho desfavorável.

Dessa maneira, o presente trabalho teve o objetivo de avaliar a estabilidade e adaptabilidade do rendimento de grãos de linhagens elites do Programa de Melhoramento Genético de Soja da Universidade Federal de Viçosa, utilizando diferentes métodos de adaptabilidade e estabilidade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Locais de condução dos experimentos de campo

Informações de produtividade foram obtidas nos anos agrícolas 2002/03 e 2003/04 com linhagens e cultivares de soja pertencentes aos ensaios intermediários do Estado de Minas Gerais e aos grupos de maturidade semitardio/tardio e tardio do Programa de Melhoramento Genético de Soja do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa.

Os ensaios foram conduzidos em cinco diferentes ambientes:

- I – Capinópolis 1 - solo fértil, adubação de base 300kg/ha 00-25-25, ano agrícola 2002/03.
- II – Capinópolis 2 - solo pobre, sem adubação de base, ano agrícola 2002/03.
- III – Florestal – solo fértil e adubação de base 300kg/ha 00-25-25.
- IV – Capinópolis 1 - solo fértil, adubação de base 300kg/ha 00-25-25, agrícola 2003/04.
- V – Capinópolis 2 - solo pobre, sem adubação de base, ano agrícola 2003/04).

Capinópolis – município localizado no Triângulo Mineiro, Estado de Minas Gerais, a 620 metros de altitude, latitude de 18° 41'05" Sul e longitude de 49° 34'51" Oeste.

Florestal – município localizado na Zona Metalúrgica de Belo Horizonte, Estado de Minas Gerais, a 796 metros de altitude, latitude de 19° 52'26" Sul e longitude 42° 26'17" Oeste.

As linhagens testadas nos ensaios foram provenientes do método descendente de uma única vagem por planta (SPD), ou seja, a partir da geração F2 até a geração F6, adotou-se o procedimento de retirada de uma vagem por planta e posteriormente a

semeadura de 3 a 5 fileiras de 5 metros cada, contendo de 12 a 15 sementes por metro linear.

2.2. Delineamento experimental

Nos ensaios de campo utilizou-se o delineamento em blocos casualizados, com 3 repetições. Cada parcela foi constituída por quatro linhas de 5 metros cada, distânciadas de 0,5 metro. As informações de produtividade foram coletadas em uma área de útil de 4m², constituída das duas fileiras centrais desprovidas de 0,5 metros em cada extremidade.

2.3. Cultivares e linhagens avaliadas

Os materiais genéticos utilizados foram constituídos de linhagens do Programa de Melhoramento Genético de Soja da Universidade Federal de Viçosa e de cultivares oriundas de diferentes programas.

Para análise, os materiais genéticos foram divididos em dois grupos, de acordo com o grupo de maturação:

- Grupo I – constituído por 20 cultivares pertencentes ao grupo de maturidade semitardio-tardio (Tabela 1).
- Grupo II – constituído por 17 cultivares pertencentes ao grupo de maturidade tardio (Tabela 2).

Tabela 1. Materiais do grupo de maturidade Semitardio-tardio

1- Conquista (padrão semitardio)	11- UFV99-722F626
2- Monarca (padrão semitardio)	12- UFV98-RC71067
3- DM-339 (padrão tardio)	13- UFV98-878557
4- BRS-Celeste (padrão tardio)	14- UFV98-878565
5- UFV99-9392019	15- UFV99-8231826
6- UFV99-3047-84	16- UFV98-8552095
7- UFV99-3047-81	17- UFV99-8542068
8- UFV-2002-284	18- UFV99-8552104
9- UFV01-846305B	19- UFV99-8552096
10- UFV01-10533486B	20- UFV-18 (Patos de Minas) (padrão semitardio)

Tabela 2. Materiais do grupo de maturidade Tardio

1- UFV-18 (Patos de Minas) (padrão semitardio)	11- UFV99-853459
2- BRS-Celeste (padrão tardio)	12- UFV-18-170
3- DM-339 (padrão tardio)	13- UFV-2003-334
4- M-Soy 8914 (padrão tardio)	14- FT CRISRC7RC135A
5- UFV01-66322813	15- FT CRISRC7C1PUB1369
6- UFV99-9422035	16- UFV01-8553215
7- UFV99-8552093	17- UFV01-871375B
8- UFV91-651226	
9- UFV99-8552099	
10- UFV99-8972162	

2.4. Avaliação da produtividade

Em cada parcela, a avaliação da produtividade de grãos foi realizada em uma área útil de 4m², onde foram colhidas todas as plantas manualmente e em seguida realizado o processo de debulha e quando necessário a secagem até 14% de umidade. As sementes de cada parcela foram recolhidas em um saco de pano, retirado a umidade e pesadas utilizando uma balança digital. Este processo foi realizado para todas as parcelas e para as três repetições.

2.5. Teste de comparação entre médias

Foi realizado a comparação entre as médias de produtividade de cada genótipo dentro de cada ambiente utilizando o teste Tukey a 5% de probabilidade.

2.6. Análises estatísticas

Os dados obtidos de produtividade, foram submetidos a análise de normalidade (teste de Lilliefors), verificando a necessidade ou não de transformação dos dados. Após este teste, foi realizado a análise de variância individual e em seguida a análise de variância conjunta para cada grupo de maturação. Nas análises, os efeitos de genótipos foram considerados fixo, enquanto os de local e ano foram considerados aleatórios.

Na análise de estabilidade e adaptabilidade foram utilizados as seguintes metodologias: método de Ebehart e Russell, de Annicchiarico, de Lin e Binns e do Centróide, as quais são descritas a seguir.

2.6.1. Método de Ebehart e Russell (1966)

Nesta metodologia, é realizada uma análise de regressão dos valores da produção dos genótipos em função dos índices ambientais, definidos como a diferença entre a média dos genótipos em cada ambiente e a média geral.

Os parâmetros que expressam a estabilidade e a adaptabilidade são a produtividade média (β_{0i}), a resposta linear a variação ambiental (β_{1i}) e o desvio da regressão para cada genótipo (σ_{di}^2), obtidos a partir do seguinte modelo de regressão:

$$Y_{ij} = \beta_{0i} + \beta_{1i}I_j + \delta_{ij} + \overline{\varepsilon_{ij}}$$

onde:

Y_{ij} = média do i-ésimo genótipo no j-ésimo ambiente;

β_{0i} = média geral do genótipo i;

β_{1i} = resposta linear do genótipo i a variação ambiental;

I_j = índice ambiental codificado $\left(\sum_j I_j = 0 \right)$;

δ_{ij} = desvio da regressão; e

$\overline{\varepsilon_{ij}}$ = erro experimental médio.

De acordo com a metodologia, o genótipo que apresenta um coeficiente de regressão (β_{1i}) maior que 1 terá comportamento melhor, em ambientes favoráveis respondendo de forma acentuada a melhoria do ambiente, enquanto o genótipo com coeficiente de regressão menor que 1 terá melhor desempenho em ambientes desfavoráveis e o genótipo responde pouco a melhoria do ambiente. Se $\beta_{1i} = 1$, o genótipo é considerado de adaptabilidade geral ou ampla. A estabilidade é medida pelo desvio da regressão, sendo que, $\sigma_{di}^2 = 0$ o genótipo é considerado de alta estabilidade, significando em termos de produtividade que esta é previsível nos distintos ambientes. A variância dos desvios da regressão e a medida de estabilidade podem ser obtidas por:

$$\hat{\sigma}_{di}^2 = \frac{QMD_i - QMR}{r}$$

Medida de adaptabilidade

$$\hat{\beta}_{li} = \frac{\sum_j Y_{ij} I_j}{\sum_j I_j^2}$$

Sendo a hipótese $H_0: \beta_{li} = 1$ versus $H_a: \beta_{li} \neq 1$, testada pela estatística “t”

2.6.2. Método de Annicchiarico (1992)

Neste método, o parâmetro de estabilidade é medido pela superioridade do genótipo em relação à média de cada ambiente. A medida de estabilidade e adaptabilidade, ou índice de recomendação foi obtido por:

$$\omega_i = \hat{\mu}_i - Z_{(1-\alpha)} \hat{\sigma}_{zi}$$

sendo

$$Z_{ij} = \frac{100Y_{ij}}{\bar{Y}_{.j}}$$

onde:

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

$\bar{Y}_{.j}$: média do j-ésimo ambiente;

$\hat{\mu}_i = \frac{\sum_{j=1}^a Z_{ij}}{a}$: média do genótipo considerando todos os genótipos, da mesma forma

foi obtido para ambientes favoráveis e desfavoráveis.

$\hat{\sigma}_{zi}$: refere-se ao desvio padrão dos valores de Z_{ij} do i-ésimo genótipo, considerando seu comportamento em todos os ambientes, em ambientes favoráveis e em ambientes desfavoráveis.

Desta forma, obteve-se três estimativas de ω_i , a primeira para todos os ambientes, a segunda para ambientes favoráveis e a última para ambientes

desfavoráveis. Sendo neste caso, os genótipos mais estáveis aqueles associados aos maiores valores do índice de recomendação (ω_i), ou seja, aqueles genótipos com valores altos da média e baixos da variação do comportamento nos vários ambientes.

2.6.3. Método de Lin e Binns (1988), modificado por Carneiro (1998)

Neste método, avaliou-se a estabilidade do genótipo como o quadrado médio da distância entre a média do genótipo e a resposta média máxima para todos os locais, dado por:

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

onde:

P_i : estimativa do parâmetro estabilidade do cultivar i ;

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

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

a : número de ambientes

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

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

em que:

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

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

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

f : número de ambientes favoráveis

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

onde:

d: número de ambientes desfavoráveis.

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

2.6.4. Método do Centróide

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

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

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

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

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

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

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

em que:

Y_{ij} = média do genótipo i no ambiente j;

$Y_{..}$ = total das observações;

a = número de ambientes; e

g = número de genótipos.

A análise classificatória foi realizada calculando as distâncias euclidianas de cada genótipo aos centróides estabelecidos, por meio de:

$$D_{ik} = \sqrt{\sum_{j=1}^a (Y_{ij} - C_{ijk})^2},$$

em que D_{ik} é a distância do genótipo i ao centróide K (K=1,2,3 e 4). De posse dos valores de D_{ik} realiza-se a seguinte classificação:

- a) Adaptabilidade geral: quando D_{i1} é o menor valor obtido.
- b) Adaptabilidade específica a ambientes favoráveis: quando D_{i2} é o menor valor.
- c) Adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis: quando D_{i3} é o menor valor obtido.
- d) Não adaptado: quando D_{i4} é o menor valor obtido.

As análises estatísticas e biométricas de estabilidade e adaptabilidade foram processadas com o auxílio do aplicativo computacional “Genes”, desenvolvido por Cruz (1997).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Teste de comparação entre médias

As Tabelas 3 e 4 contêm os resultados obtidos nos ensaios intermediários de avaliação de cultivares de ciclo semitardio/tardio e tardio, respectivamente, do ano agrícola 2002/2003 e 2003/2004.

As 20 cultivares avaliadas do ciclo de maturidade semitardio/tardio apresentaram produtividade média geral nos cinco ambientes avaliados de 2237,05 kg/ha. Em Capinópolis I, safra 2002/2003, a cultivar UFV-18 (Patos de Minas) foi estatisticamente superior aos cultivares UFV99-3047-81, UFVS-2002-284, BRS-Celeste e UFV98-8552095. Este foi o ambiente que apresentou a maior média dentre os cinco ambientes. Em Capinópolis II, safra 2002/2003, a linhagem UFV99-9392019 apresentou a menor média de produtividade e diferença estatística em relação os cultivar DM-339.

O cultivar UFV-18 (Patos de Minas) também foi estatisticamente superior aos cultivares UFV99-3047-84, UFV01-846305B e UFV98-RC71067 em Florestal – MG.

Em Capinópolis I, safra 2003/2004, os cultivares Conquista e UFV99-3047-84 se destacaram apresentando maior média dentre os demais. Em Capinópolis II, safra 2003/2004, os cultivares Conquista e UFVS-2002-284 apresentaram-se estatisticamente diferente dos cultivares UFV99-8542068 e BRS-Celeste. Neste ambiente os cultivares apresentaram menor média de produtividade que os demais.

Realizando uma análise geral o cultivar UFV01-846305B apresentou a menor média, sendo muito prejudicado nos ambientes Florestal, Capinópolis I e II safra 2003/2004.

Na Tabela 3 são apresentados os resultados de 17 cultivares de ciclo tardio, apresentando uma média geral de 2249,55 kg/ha.

Em Capinópolis I, safra 2002/2003, os cultivares UFV99-8552093 e UFV91-651226 apresentaram média alta e diferença estatística em relação o cultivar UFVS-2003-334. Este foi o ambiente que apresentou a melhor média dentre os demais. Em Capinópolis II, safra 2002/2003, não houve diferença significativa entre as médias de cultivares avaliados.

O cultivar DM-339 apresentou-se diferente estatisticamente do cultivar FT CRISRC7RC135A em Florestal – MG.

Em Capinópolis I, safra 2003/2004, o cultivar UFV99-8972162 apresentou diferença estatisticamente do cultivar BRS-Celeste, sendo o ambiente com a menor média dentre os demais. Em Capinópolis II, safra 2003/2004, o cultivar UFV99-8972162 apresentou-se diferente estatisticamente da cultivar BRS-Celeste.

Realizando uma análise de todos os ambientes utilizando cultivares tardios, a linhagem UFV91-651226 apresentou a melhor média com 2.603 kg/ha.

Comparando os dados contidos nas Tabelas 3 e 4, verifica-se que os ensaios instalados em Capinópolis na safra 2003/2004 apresentaram uma menor média, podendo inferir que este local no ano agrícola 2003/2004 não foi favorável para o desenvolvimento dos cultivares avaliados.

Tabela 3. Médias de produtividade de grãos de 20 cultivares de soja de ciclo semitardio/tardio, em cinco ambientes, na safra 2002/2003 e 2003/2004 em Minas Gerais

Genótipos	Ambientes										
	Capinópolis I		Capinópolis II		Florestal		Capinópolis I*		Capinópolis II*		Média
UFV-18 (Patos de Minas)	4212,50	a	2100,00	def	3150,00	a	1358,33	ab	1270,83	ab	2418,33
UFV99-8231826	4093,33	ab	2962,50	abc	2854,17	ab	1358,33	ab	1070,83	ab	2467,83
Monarca	3987,50	abc	3008,33	ab	2725,00	ab	1900,00	ab	1462,50	ab	2616,67
UFV99-9392019	3968,33	abcd	1800,00	f	1962,50	abcd	1358,33	ab	1520,83	ab	2122,00
Conquista	3400,00	abcde	2500,00	abcdef	2000,00	abcd	2108,33	a	1854,17	a	2372,50
DM-339	3808,33	abcde	3108,33	a	2655,83	abc	1404,17	ab	1112,50	ab	2417,83
UFV99-3047-84	3479,17	abcde	2062,50	ef	1441,67	cd	2080,83	a	1483,33	ab	2109,50
UFV01-846305B	3412,50	abcde	2500,83	abcdef	1287,50	d	1400,00	ab	1050,00	ab	1930,17
UFV01-10533486B	3658,33	abcde	2454,17	abcdef	2850,00	ab	1762,50	ab	1520,83	ab	2449,17
UFV99-722F626	3625,00	abcde	2718,33	abcde	2069,17	abcd	1875,00	ab	1441,67	ab	2345,83
UFV98-RC71067	3562,50	abcde	2725,00	abcde	1804,17	bcd	1291,67	ab	1487,50	ab	2174,17
UFV98-878557	3758,33	abcde	2093,33	def	2104,17	abcd	1341,67	ab	1287,50	ab	2117,00
UFV98-878565	3808,33	abcde	2283,33	bcdef	2630,00	abc	1220,83	b	1295,83	ab	2247,67
UFV99-8542068	3654,17	abcde	2334,17	bcdef	2337,50	abcd	1212,50	b	875,00	b	2082,67
UFV99-8552104	3587,50	abcde	2805,83	abcd	2730,83	ab	1195,83	b	1329,17	ab	2329,83
UFV99-8552096	3508,33	abcde	2679,17	abcde	2575,00	abc	1133,33	b	1158,33	ab	2210,83
UFV99-3047-81	3312,50	bcde	2312,50	bcdef	2133,33	abcd	1462,50	ab	1570,83	ab	2158,33
UFV-2002-284	3100,00	cde	2543,33	abcde	2043,33	abcd	1600,00	ab	1879,17	a	2233,17
BRS-Celeste	3070,83	de	2270,83	cdef	2395,83	abcd	1170,83	b	900,00	b	1961,67
UFV98-8552095	2933,33	e	2287,50	bcdef	2320,83	abcd	1087,50	b	1250,00	ab	1975,83
Média (kg/ha)	3597,04		2477,50		2303,54		1466,12		1341,04		2237,05

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Capinópolis I = solo fértil safra 2002/2003; Capinópolis II = solo pobre safra 2002/2003; Capinópolis I* = solo fértil safra 2003/2004; Capinópolis II* = solo pobre safra 2003/2004.

Tabela 4. Médias de produtividade de grãos de 17 cultivares de soja de ciclo tardio em cinco ambientes, na safra 2002/2003 e 2003/2004 em Minas Gerais

Genótipos	Ambientes										
	Capinópolis I		Capinópolis II		Florestal		Capinópolis I*		Capinópolis II*		Média
UFV99-8552093	4175,00	a	2593,33	a	2494,17	abc	1412,50	abc	1495,83	abc	2434,17
UFV91-651226	4154,17	a	3087,50	a	2794,17	abc	1287,50	abcd	1691,67	ab	2603,00
UFV99-9422035	3983,33	ab	2212,50	a	2300,00	bcd	1037,50	bcd	779,17	bc	2062,50
UFV01-871375B	3850,00	ab	2505,83	a	2325,00	bcd	1554,17	ab	1437,50	abc	2334,50
M-Soy 8914	3820,83	ab	2700,00	a	2645,83	abc	1193,75	abcd	1081,25	abc	2288,33
UFV99-8972162	3783,33	abc	2650,00	a	2083,33	cd	1705,83	a	1729,17	a	2390,33
UFV99-8552099	3725,00	abc	2262,50	a	2775,00	abc	1330,83	abcd	1279,17	abc	2274,50
UFV-18 (Patos de Minas)	3691,67	abc	3143,33	a	2341,67	bcd	1237,50	abcd	1418,75	abc	2366,58
FT CRISRC7C1PUB1369	3679,17	abc	1983,33	a	2337,50	bcd	1104,17	bcd	1437,50	abc	2108,33
UFV01-66322813	3670,83	abc	3068,33	a	2068,33	cd	1229,17	abcd	1350,00	abc	2277,33
DM-339	3625,00	abc	3205,83	a	3154,17	a	944,17	cd	1020,83	abc	2390,00
FT CRISRC7RC135A	3625,00	abc	2380,83	a	1587,50	d	1300,00	abcd	1562,50	abc	2091,17
UFV99-853459	3620,83	abc	2468,33	a	2380,83	bc	1137,50	bcd	1275,00	abc	2176,50
UFV01-8553215	3612,50	abc	2062,50	a	2170,83	bcd	1041,67	bcd	1487,50	abc	2075,00
UFV-18-170	3275,00	bc	2868,33	a	2905,83	ab	1155,83	bcd	1308,33	abc	2302,67
BRS-Celeste	3225,00	bc	2662,50	a	2816,67	abc	833,33	d	745,83	c	2056,67
UFV-2003-334	3025,00	c	2037,50	a	2166,67	bcd	1408,33	abc	1416,67	abc	2010,83
Média (kg/ha)	3678,92		2581,91		2432,21		1230,22		1324,51		2249,55

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Capinópolis I = solo fértil safra 2002/2003; Capinópolis II = solo pobre safra 2002/2003; Capinópolis I* = solo fértil safra 2003/2004; Capinópolis II* = solo pobre safra 2003/2004.

3.2. Análise de variância conjunta

Realizando inicialmente uma inferência sobre as análises individuais dos materiais de ciclo de maturação semitardio-tardio e tardio, todos os ambientes mostraram-se significativos a 1% ($p < 0,01$) e coeficiente de variação inferior a 23%.

Os resultados das análises de variância conjunta quanto a produção de grãos são apresentados nas Tabelas 5 e 6. Os efeitos de ambiente e da interação entre genótipo e ambiente para ambos os grupos de maturação mostraram-se significativos. O efeito de genótipo mostrou-se não-significativo para ambos os ciclos de maturação, o qual assemelha-se ao trabalho de Alliprandini *et al*, (1998).

A significância da interação genótipo e ambiente demonstra que há uma variação de resposta dos cultivares nos diferentes ambientes, indicando a existência de cultivares adaptados a ambientes particulares e ou com adaptação mais ampla. Os coeficientes de variações foram 13,95 e 12,82 para os ciclos semitardio-tardio e tardio respectivamente, indicando uma boa precisão de acordo com Carvalho (2002), Prado (2001) e Lopes (2002).

Tabela 5. Análise de variância conjunta para rendimento de grãos (kg/ha) de 20 genótipos de soja de ciclo semitardio-tardio, em 5 ambientes, no Estado de Minas Gerais

Fonte de variação	GL	Quadrado médio
		Rendimento de grãos
Bloco/Ambiente	10	283234,50
Bloco	2	56124,81
Bloco x Ambiente	8	340011,92
Genótipos	19	523945,04 ^{ns}
Ambientes	4	49634564,50 ^{**}
Genótipo x Ambiente	76	349047,15 ^{**}
Resíduo	190	97448,00
Média		2237,05
CV(%)		13,95

** - Significativo a 1%,
ns - não significativo,

Tabela 6. Análise de variância conjunta para rendimento de grãos (kg/ha) de 17 genótipos de soja de ciclo tardio, em 5 ambientes, no Estado de Minas Gerais

Fonte de variação	GL	Quadrado médio
		Rendimento de grãos
Bloco/Ambiente	10	112915,61
Bloco	2	120462,54
Bloco x Ambiente	8	111028,88
Genótipos	16	407998,47 ^{ns}
Ambientes	4	52041195,71 ^{**}
Gentipo x Ambiente	64	287589,13 ^{**}
Resíduo	160	83277,51
Meédia		2249,55
CV(%)		12,82

** - Significativo a 1%.

ns - não significativo

3.3. Adaptabilidade e estabilidade

De acordo com a metodologia de Eberhart & Russell (1966) para a avaliação de estabilidade e adaptabilidade, Tabelas 7 e 8, a cultivar ideal é a que apresenta produtividade média superior a média geral, coeficiente de regressão igual à unidade e com pequeno desvio de regressão, ou seja, a cultivar com resposta positiva à melhoria das condições ambientais ($\beta_1 = 1$) e com comportamento previsível ($\sigma_{di}^2 = 0$).

Analisando os cultivares do grupo de maturação semitardio-tardio (Tabela 7), os cultivares Monarca, UFV01-10533486B, UFV99-722F626, UFV98-878565, UFV99-8552096, UFV98-878557, UFV98-8552095 e BRS-Celeste apresentaram coeficiente de regressão e desvio da regressão não significativo, indicando que são cultivares de adaptabilidade geral e estabilidade de produção ao longo dos ambientes.

A linhagem UFV99-8231826 foi a única que apresentou média superior a média geral, coeficiente de regressão significativo e superior a unidade, indicando ser responsivo a ambientes favoráveis e desvio da regressão não significativo. Este mesmo resultado foi encontrado por Di Mauro *et al*, (2000), onde relata que estes têm a capacidade de explorar vantajosamente os ambientes favoráveis.

A cultivar Conquista apresentou média superior a média geral, coeficiente de regressão significativo e menor que a unidade, indicando ser um genótipo específico a ambientes desfavoráveis e de boa estabilidade, Segundo Pelúzio e Sedyama (2000), cultivares como estes são recomendados para áreas de baixa tecnologia.

As cultivares UFV-18 (Patos de Minas) e DM-339 são cultivares de adaptabilidade a ambientes favoráveis e de baixa previsibilidade.

Tabela 7. Parâmetros de adaptabilidade e estabilidade de linhagens de soja do grupo de maturação semitardio-tardio, avaliadas em Minas Gerais, com base na metodologia de Eberhart e Russel (1966)

Genótipo	Produtividade (kg/ha)			
	Média	$\hat{\beta}_1$	$\hat{\sigma}_{di}^2$	R_i^2
Monarca	2616,66	1,07 ^{ns}	-7007,68 ^{ns}	98,03
UFV99-8231826	2467,83	1,34 ^{**}	34521,86 ^{ns}	96,76
UFV01-10533486B	2449,16	0,91 ^{ns}	25909,44 ^{ns}	94,07
UFV-18 (Patos de Minas)	2418,33	1,28 ^{**}	240221,58 ⁺⁺	87,00
DM-339	2417,83	1,21 [*]	69138,36 ⁺	94,13
Conquista	2372,50	0,62 ^{**}	51710,77 ^{ns}	83,69
UFV99-722F626	2345,83	0,90 ^{ns}	34158,43 ^{ns}	93,08
UFV99-8552104	2329,83	1,09 ^{ns}	64498,85 ⁺	93,16
UFV98-878565	2247,66	1,14 ^{ns}	26657,13 ^{ns}	96,09
UFVS-2002-284	2233,16	0,61 ^{**}	15712,11 ^{ns}	89,74
UFV99-8552096	2210,83	1,11 ^{ns}	41652,47 ^{ns}	94,83
UFV98-RC71067	2174,16	0,99 ^{ns}	82133,14 ⁺	90,49
UFV99-3047-81	2158,33	0,80 [*]	-20883,34 ^{ns}	98,40
UFV99-9392019	2122,00	1,07 ^{ns}	191959,74 ⁺⁺	84,97
UFV98-878557	2117,00	1,07 ^{ns}	14045,55 ^{ns}	96,49
UFV99-3047-84	2109,50	0,72 ^{**}	297716,74 ⁺⁺	63,54
UFV99-8542068	2082,66	1,19 [*]	-13738,80 ^{ns}	98,83
UFV98-8552095	1975,83	0,82 ^{ns}	30155,08 ^{ns}	92,32
BRS-Celeste	1961,66	0,95 ^{ns}	42530,30 ^{ns}	93,11
UFV01-846305B	1930,16	0,99 ^{ns}	195894,39 ⁺⁺	82,83
Média Geral	2237,05			

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

+ e ++ - Significativo a 5% e 1% de probabilidade, pelo teste F, respectivamente.

ns – Não significativo .

As cultivares do grupo de maturação tardio DM-339, UFV99-9422035, UFV99-8972162 e UFVS-2003-334 apresentaram valores de $\hat{\beta}_1$ estatisticamente diferente de 1 (um), sendo que os dois primeiros mostraram-se serem adaptados

especificamente a ambientes favoráveis e os dois últimos a ambientes desfavoráveis. Com relação a estabilidade, as cultivares UFV-18 (Patos de Minas), BRS-Celeste, DM-339, UFV01-66322813, UFV99-8552099, UFV99-8972162, UFV-18-170, FT CRISRC7RC135A, FT CRISRC7C1PUB1369 e UFV01-8553215 apresentaram desvio de regressão significativos, demonstrando serem de baixa estabilidade.

No geral, as linhagens UFV91-651226, UFV99-8552093 e UFV01-871375B apresentaram desempenho satisfatório, devido a uma média elevada, superior a média geral, boa adaptabilidade geral e previsibilidade de seus comportamentos.

A linhagem UFV99-8972162 apesar de ser uma linhagem produtiva e adaptável a ambientes de baixa tecnologia, não demonstra ser promissora devido a um desvio de regressão linear significativo. Porém apresenta R^2 de 90,36%.

Tabela 8. Parâmetros de adaptabilidade e estabilidade de linhagens de soja do grupo de maturação tardio, avaliadas em Minas Gerais, com base na metodologia de Eberhart e Russel (1966)

Genótipo	Produtividade (kg/ha)			
	Média	$\hat{\beta}_1$	$\hat{\sigma}_{di}^2$	R_i^2
UFV91-651226	2603,00	1,12 ^{ns}	-7469,09 ^{ns}	98,83
UFV99-8552093	2434,16	1,09 ^{ns}	7864,58 ^{ns}	97,85
UFV99-8972162	2390,33	0,81*	68886,57 ⁺	90,36
DM-339	2390,00	1,20*	244959,15 ⁺⁺	87,86
UFV-18 (Patos de Minas)	2366,58	1,02 ^{ns}	59527,09 ⁺	94,22
UFV01-871375B	2334,50	0,94 ^{ns}	10454,25 ^{ns}	96,93
UFV-18-170	2302,66	0,92 ^{ns}	118385,23 ⁺⁺	88,85
M-Soy 8914	2288,33	1,13 ^{ns}	-7630,52 ^{ns}	98,86
UFV01-66322813	2277,33	1,01 ^{ns}	93891,23 ⁺⁺	92,01
UFV99-8552099	2274,50	0,99 ^{ns}	49028,47 ⁺	94,56
UFV99-853459	2176,50	1,00 ^{ns}	-26675,12 ^{ns}	99,92
FT CRISRC7C1PUB1369	2108,33	0,95 ^{ns}	67967,95 ⁺	92,80
FT CRISRC7RC135A	2091,16	0,85 ^{ns}	174845,17 ⁺⁺	83,09
UFV01-8553215	2075,00	0,93 ^{ns}	50211,14 ⁺	93,82
UFV99-9422035	2062,50	1,24 ^{**}	27746,10 ^{ns}	97,42
BRS-Celeste	2056,66	1,09 ^{ns}	182179,44 ⁺⁺	88,59
UFV-2003-334	2010,83	0,64 ^{**}	-11715,16 ^{ns}	97,28
Média Geral	2249,55			

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

+ e ++ - Significativo a 5% e 1% de probabilidade, pelo teste F, respectivamente.

ns - Não significativo.

Na metodologia de Lin e Binns, modificado por Carneiro (1998), a performance genotípica é estimada pelo parâmetro (P_i), o qual se relaciona à distância da cultivar avaliada a melhor cultivar, de modo que quanto menor o seu valor, maior será a adaptabilidade e estabilidade de comportamento da cultivar.

Nas Tabelas 9 e 10 estão apresentados os valores de médias de produtividade, P_i geral, P_i favorável e P_i desfavorável, das cultivares de soja de ciclo semitardio-tardio e tardio, respectivamente.

As cultivares do grupo de maturação semitardio-tardio (Tabela 9) Monarca, UFV01-10533486B e UFV99-8231826 apresentaram as maiores médias de produtividade e estabilidade a ambiente geral, ou seja, menores valores de P_i geral, como pode ser observado pelo método de Eberhart e Russell (1966).

A linhagem UFV99-8231826 apresentou o menor valor de P_i geral, indicando ser responsiva a melhoria de ambiente e de alta estabilidade, como se observa pela metodologia de Eberhart e Russell (1966).

A cultivar Conquista foi indicada pelo método de Eberhart e Russell (1966) a ambientes desfavoráveis, o que pode ser visto pelo método de Lins e Binns modificado por Carneiro (1998), em que esta apresenta o menor valor de P_i desfavorável.

A metodologia de Lin e Binns indicou as cultivares UFV-18 (Patos de Minas) e DM-339 como sendo responsivas a melhoria de ambientes e de boa previsibilidade, o que também foi observado pela metodologia de Eberhart e Russell.

Tabela 9. Parâmetros de adaptabilidade e estabilidade de linhagens de soja do grupo de maturação semitardio-tardio, avaliadas em Minas Gerais, com base na metodologia de Lin e Binns (1988)

Genótipo	Produtividade (kg/ha)			
	Média	P_i geral	P_i favorável	P_i desfavorável
Monarca	2616,66	45826,38	40208,33	54253,46
UFV99-8231826	2467,83	133888,80	20497,56	303975,66
UFV01-10533486B	2449,16	107303,81	137505,78	62000,85
UFV-18 (Patos de Minas)	2418,33	194930,53	169456,01	233142,31
DM-339	2417,83	149117,98	67925,24	270907,08
Conquista	2372,50	235335,06	392120,94	156,25
UFV99-722F626	2345,83	191130,76	277576,15	61462,66
UFV99-8552104	2329,83	179298,80	109638,65	283789,02
UFV98-878565	2247,66	224230,97	185729,31	281983,47
UFV-2002-284	2233,16	303999,50	463598,72	64600,67
UFV99-8552096	2210,83	248088,51	168443,29	367556,37
UFV98-RC71067	2174,16	320105,89	396785,30	205086,78
UFV99-3047-81	2158,33	298913,18	412826,96	128042,50
UFV99-9392019	2122,00	387241,23	530251,62	172725,66
UFV98-878557	2117,00	326810,69	388376,63	234461,79
UFV99-3047-84	2109,50	470738,82	758324,67	39360,06
UFV99-8542068	2082,66	338209,42	261871,06	452716,97
UFV98-8552095	1975,83	443550,35	499592,04	359487,80
BRS-Celeste	1961,66	441124,98	428929,39	459418,36
UFV01-846305B	1930,16	566721,58	746327,08	297313,33

A linhagem UFV91-651226, do grupo de maturação tardio, (Tabela 10) apresentou a melhor média geral, o menor P_i geral e o menor P_i favorável indicando ter boa performance geral e responsiva a ambientes favoráveis, como pode ser observado na metodologia de Eberhart e Russell.

A linhagem UFV99-8972162 apresentou-se responsiva a ambientes de baixa tecnologia e de baixa previsibilidade.

Tabela 10. Parâmetros de adaptabilidade e estabilidade de linhagens de soja do grupo de maturação tardio, avaliadas em Minas Gerais, com base na metodologia de Lin e Binns (1988)

Genótipo	Produtividade (kg/ha)			
	Média	P_i geral	P_i favorável	P_i desfavorável
UFV91-651226	2603,00	32044,58	24006,13	44102,25
UFV99-8552093	2434,16	95124,51	135126,04	35122,22
UFV99-8972162	2390,33	160903,75	268172,92	0,00
DM-339	2390,00	138437,22	50416,66	270468,05
UFV-18 (Patos de Minas)	2366,58	121336,81	149612,25	78923,65
UFV01-871375B	2334,50	139121,45	213857,06	27018,05
UFV-18-170	2302,66	146517,63	164262,61	119900,17
M-Soy 8914	2288,33	132172,95	106617,36	170506,33
UFV01-66322813	2277,33	182310,27	242020,71	92744,61
UFV99-8552099	2274,50	157927,01	206024,18	85781,25
UFV99-853459	2176,50	197832,15	241508,56	132317,53
FT CRISRC7C1PUB1369	2108,33	285437,35	401216,88	111768,05
FT CRISRC7RC135A	2091,16	363004,79	572928,24	48119,61
UFV01-8553215	2075,00	309008,19	431760,30	124880,04
UFV99-9422035	2062,50	310221,73	292174,65	337292,36
BRS-Celeste	2056,66	303981,80	218602,88	432050,17
UFV-2003-334	2010,83	384882,13	610443,14	46540,63

De acordo com Annicchiarico (1992), a cultivar que apresenta melhor desempenho é aquela de maior índice de recomendação (ω_i).

Na Tabela 11 estão os resultados da análise de estabilidade seguindo a metodologia de Annicchiarico (1992). Entre os materiais do grupo de maturação semitardio-tardio, as cultivares Monarca e UFV01-10533486B foram as que apresentaram os maiores valores do índice de recomendação ω_i ambientes no geral, ou seja, valores altos de média e baixos na variação do comportamento nos vários ambientes, o que pode ser visto pela metodologia de Lin e Binns modificado por Carneiro (1998).

Para ambientes favoráveis UFV99-8231826, Monarca e DM-339 foram as que apresentaram maiores valores de ω_i , o que pode ser evidenciado pela metodologia de Lin e Bins modificado por Carneiro (1998) e Eberhart e Russell (1966).

Em ambientes desfavoráveis Conquista, UFV99-3047-84 e UFVS-2002-284 foram as de maior desempenho em ambientes desfavoráveis, tendo também ocorrido nos dois métodos anteriores.

Tabela 11. Parâmetros de adaptabilidade e estabilidade de linhagens de soja do grupo de maturação semitardio-tardio, avaliadas em Minas Gerais, com base na metodologia de Annicchiarico (1992)

Genótipo	Produtividade (kg/ha)			
	Média	ω_i geral	ω_i favorável	ω_i desfavorável
Monarca	2616,66	115,56	115,37	115,35
UFV99-8231826	2467,83	100,78	117,70	83,77
UFV01-10533486B	2449,16	108,62	104,45	115,49
UFV-18 (Patos de Minas)	2418,33	99,37	105,69	93,29
DM-339	2417,83	100,54	112,86	86,88
Conquista	2372,49	105,68	92,15	139,96
UFV99-722F626	2345,83	103,33	97,38	113,75
UFV99-8552104	2329,83	98,50	107,85	86,94
UFV98-878565	2247,66	95,14	101,03	87,36
UFV-2002-284	2233,16	99,44	90,08	118,63
UFV99-8552096	2210,83	92,26	103,79	80,08
UFV98-RC71067	2174,16	93,42	91,38	95,09
UFV99-3047-81	2158,33	96,08	92,50	105,08
UFV99-9392019	2122,00	90,16	84,14	99,01
UFV98-878557	2116,99	91,55	90,66	92,89
UFV99-3047-84	2109,50	90,86	76,15	120,21
UFV99-8542068	2082,66	84,84	97,93	70,60
UFV98-8552095	1975,83	85,53	88,91	80,01
BRS-Celeste	1961,66	81,85	91,08	71,02
UFV01-846305B	1930,16	80,06	77,21	83,56

Utilizando ainda a metodologia de Annicchiarico (1992) para cultivares do grupo de maturação tardio (Tabela 12), as linhagens que apresentaram estabilidade geral, ou seja, as com maiores valores do índice de recomendação e maiores médias foram as UFV91-651226 e UFV99-8552093.

Em ambientes favoráveis a linhagem UFV91-651226 ficou entre as de maior estabilidade e maior média, semelhante ocorreu na metodologia de Eberhart e Russell (1966) e Lin e Binns modificado por Carneiro (1998).

A linhagem UFV99-8972162 demonstrou ser responsiva a ambientes de baixa tecnologia em todas as metodologias utilizadas.

Tabela 12. Estimativa de adaptabilidade e estabilidade de linhagens de soja do grupo de maturação tardio, avaliadas em Minas Gerais, com base na metodologia de Annicchiarico (1992)

Genótipo	Produtividade (kg/ha)			
	Média	ω_i geral	ω_i favorável	ω_i desfavorável
UFV91-651226	2603,00	113,62	114,85	111,72
UFV99-8552093	2434,16	106,99	103,57	113,51
UFV99-8972162	2390,33	106,07	94,34	133,03
DM-339	2390,00	94,37	112,91	76,84
UFV-18 (Patos de Minas)	2366,58	102,47	102,38	102,59
UFV01-871375B	2334,50	103,05	97,769	113,99
UFV-18-170	2302,66	99,03	102,22	95,43
M-Soy 8914	2288,33	96,25	105,01	86,35
UFV01-66322813	2277,33	97,81	96,58	100,53
UFV99-8552099	2274,50	98,74	97,37	100,13
UFV99-853459	2176,50	95,48	96,89	93,62
FT CRISRC7C1PUB1369	2108,33	90,99	87,58	95,51
FT CRISRC7RC135A	2091,16	90,56	80,50	109,44
UFV01-8553215	2074,99	89,36	86,60	93,14
UFV99-9422035	2062,50	81,39	93,06	66,64
BRS-Celeste	2056,66	79,43	98,34	59,81
UFV-2003-334	2010,83	90,05	81,98	109,26

Utilizando o método de centróide, que visa facilitar a interpretação dos dados, as cultivares do grupo de maturação semitardio-tardio (Tabela 13), Monarca e UFV01-10533486B foram as cultivares com maior probabilidade de pertencer ao grupo das que apresentam melhores padrões de reposta em ambiente geral, grupo I e com as maiores médias, o que também foi notado pelos métodos anteriores.

Como visto pelo os outros métodos as cultivares UFV99-8231826, UFV-18 (Patos de Minas) e DM-339 apresentaram-se responsivas à melhoria do ambiente, e as cultivares Conquista, UFVS-2002-284 e UFV99-3047-81 apresentaram-se adaptados a ambientes de baixa tecnologia.

As cultivares BRS-Celeste, UFV99-9392019, UFV01-846305B, UFV98-RC71067, UFV98-878557 e UFV98-8552095 pertencem aos grupos dos materiais pouco adaptados, grupo IV.

Tabela 13. Parâmetros de adaptabilidade e estabilidade de linhagens de soja do grupo de maturação semitardio-tardio, avaliadas em Minas Gerais, com base na metodologia de Centróide

Genótipo	Média	Classe	Prob ¹ I	Prob ¹ II	Prob ¹ III	Prob ¹ IV
Monarca	2616,66	I	0,454	0,275	0,139	0,129
UFV99-8231826	2467,83	II	0,229	0,548	0,105	0,115
UFV01-10533486B	2449,16	I	0,352	0,280	0,191	0,176
UFV-18 (Patos de Minas)	2418,33	II	0,292	0,366	0,165	0,175
DM-339	2417,83	II	0,268	0,436	0,140	0,154
Conquista	2372,50	III	0,251	0,184	0,349	0,214
UFV99-722F626	2345,83	I	0,277	0,237	0,259	0,226
UFV99-8552104	2329,83	II	0,267	0,382	0,165	0,184
UFV98-878565	2247,66	II	0,254	0,333	0,192	0,222
UFV-2002-284	2233,16	III	0,224	0,194	0,329	0,251
UFV99-8552096	2210,83	II	0,237	0,358	0,182	0,222
UFV98-RC71067	2174,16	IV	0,221	0,236	0,258	0,284
UFV99-3047-81	2158,33	III	0,215	0,211	0,291	0,281
UFV99-9392019	2122,00	IV	0,211	0,216	0,279	0,292
UFV98-878557	2117,00	IV	0,212	0,240	0,249	0,297
UFV99-3047-84	2109,50	III	0,154	0,138	0,453	0,253
UFV99-8542068	2082,66	II	0,211	0,308	0,201	0,279
UFV98-8552095	1975,83	IV	0,191	0,228	0,244	0,336
BRS-Celeste	1961,66	IV	0,192	0,251	0,222	0,333
UFV01-846305B	1930,16	IV	0,155	0,172	0,268	0,402

1 – Probabilidade de pertencer à classe indicada; Classe I: adaptabilidade geral; Classe II: adaptabilidade específica a ambientes favoráveis; Classe III: adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis; Classe IV: pouco adaptado.

Após realizado as análises para as cultivares do grupo de maturação tardio (Tabela 14), utilizando a metodologia de Centróide, as cultivares UFV99-8552093 e UFV91-651226 apresentaram as melhores médias e os melhores padrões de respostas a ambientes de uma maneira geral, como demonstrado pelo os outros métodos.

As cultivares DM-339 e UFV-18-170 apresentaram-se médias razoáveis e com comportamento responsivo a melhoria do ambiente, enquanto as linhagens UFV99-9422035 e UFV99-853459 apresentam padrões de resposta de pouco adaptados.

Tabela 14. Parâmetros de adaptabilidade e estabilidade de linhagens de soja do grupo de maturação tardio, avaliadas em Minas Gerais, com base na metodologia de Centróide

Genótipo	Média	Classe	Prob ¹ I	Prob ¹ II	Prob ¹ III	Prob ¹ IV
UFV91-651226	2603,00	I	0,490	0,249	0,136	0,123
UFV99-8552093	2434,16	I	0,348	0,259	0,208	0,183
UFV99-8972162	2390,33	III	0,281	0,195	0,317	0,206
DM-339	2390,00	II	0,253	0,476	0,128	0,142
UFV-18 (Patos de Minas)	2366,58	I	0,311	0,279	0,210	0,199
UFV01-871375B	2334,50	I	0,289	0,225	0,269	0,215
UFV-18-170	2302,66	II	0,293	0,299	0,202	0,204
M-Soy 8914	2288,33	II	0,276	0,338	0,185	0,200
UFV01-66322813	2277,33	I	0,266	0,256	0,242	0,234
UFV99-8552099	2274,50	I	0,280	0,265	0,231	0,222
UFV99-853459	2176,50	IV	0,236	0,246	0,252	0,264
FT CRISRC7C1PUB1369	2108,33	III	0,210	0,206	0,296	0,286
FT CRISRC7RC135A	2091,16	III	0,172	0,158	0,390	0,278
UFV01-8553215	2075,00	III	0,194	0,191	0,313	0,301
UFV99-9422035	2062,50	IV	0,208	0,274	0,218	0,298
BRS-Celeste	2056,66	II	0,214	0,327	0,193	0,264
UFV-2003-334	2010,83	III	0,154	0,143	0,417	0,285

1 – Probabilidade de pertencer à classe indicada; Classe I: adaptabilidade geral; Classe II: adaptabilidade específica a ambientes favoráveis; Classe III: adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis; Classe IV: pouco adaptado.

4. CONCLUSÕES

Entre as cultivares avaliadas do grupo de maturidade semitardio-tardio a cultivar Monarca e as linhagens UFV01-10533486B e UFV99-722F626 foram as que apresentaram ampla adaptabilidade e estabilidade.

As linhagens do grupo de maturidade tardio UFV99-8552093 e UFV91-651226 foram as que destacaram em produtividade, adaptabilidade e estabilidade para os ambientes em geral.

Os dados de produção de grãos analisados pelos diferentes métodos de estabilidade e adaptabilidade permitiram identificar as cultivares que apresentaram melhores padrões nos ambientes estudados.

Houve concordância entre as metodologias utilizadas para identificação das linhagens com maior adaptabilidade e estabilidade, mas as metodologias de ANNICCHIARICO (1992) e Centróide demonstraram os resultados de uma forma que facilita a interpretação.

CAPÍTULO 2

Diversidade Genética em soja utilizando caracteres fenotípicos e moleculares

1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma leguminosa herbácea anual de hábito de crescimento ereto, alto teor proteico e mediano de óleo e com uma facilidade de adaptação às diversas condições edafoclimáticas.

O Brasil possui extensa área cultivada e detém tecnologia de produção de grãos, para esta espécie, que é comparável e até mesmo superior, a muitos países desenvolvidos. Parte desse grande sucesso deve-se aos programas de melhoramento genético de várias instituições de pesquisa e universidades brasileiras.

No início do cultivo da soja em regiões tradicionais, os programas de melhoramento se basearam em introduções de linhagens desenvolvidas no Sul dos EUA. Posteriormente, houve o desenvolvimento de cultivares mais adaptadas. Nas regiões de expansão, os programas de melhoramento genético, primeiramente seguiram a estratégia de desenvolvimento de linhagens adaptadas às baixas latitudes, por meio da incorporação da característica período juvenil longo (Paludzyszyn Filho *et al.*, 1993). Após este momento, a soja apresentou aumento da produtividade nas regiões de cultivo, e a expansão da agricultura para as regiões de cerrado e a utilização da rotação de culturas, deixou claro que o desenvolvimento de cultivares mais produtivos e adaptados a estas regiões foram fundamentais para o desenvolvimento desta cultura no país (Hiromoto, 1996).

Estimativas da variabilidade genética da cultura têm revelado que o germoplasma brasileiro provém de base genética restrita, tendo se originado de poucas linhagens ancestrais, o que justifica a frequente similaridade entre duas ou mais cultivares no momento do pedido de registro da cultivar. Bonetti (1983) estimou que cerca de 70% das cultivares desenvolvidas para o Rio Grande do

Sul, naquela data, descendiam das cultivares americanas Hill, Hood ou ambas. Hiromoto & Vello (1986) informaram que todas as cultivares recomendadas para plantio naquele ano agrícola descendiam de 26 cultivares, sendo que, deste total, apenas quatro eram responsáveis por cerca da metade daquele conjunto gênico.

Atualmente, os melhoristas de plantas tem utilizado características morfológicas e bioquímicas para os registro e proteção de cultivares. O uso de técnicas de genética molecular, baseado na tecnologia de marcadores moleculares, permitiu analisar e detectar diferenças entre indivíduos a nível de DNA, fornecendo medidas mais precisas e diretas da variabilidade genética existente não só entre os acessos armazenados, mas também dentro destes. A caracterização genética, tanto das variedades quanto de acessos, constitui grande contribuição aos programas de melhoramento, facilitando a escolha das melhores combinações de progenitores (Neto, 2005).

Utilizando coeficiente de parentesco para avaliar a diversidade genética entre cultivares brasileiras, Vello *et al.* (1988) encontraram valor médio de parentesco de 0,16 para 69 cultivares de soja, Bonato (2000) encontrou valor médio de 0,21 para 100 cultivares e Miranda (2005), trabalhando com 457 cultivares brasileiras, encontrou valor médio de parentesco de 0,178.

Muitos estudos de diversidade em soja têm sido conduzidos utilizando características morfológicas, informações de pedigree e variações bioquímicas (Nelson *et al.*, 1987; 1988; Gizlice *et al.*, 1993; Bernard *et al.*, 1998). Embora características morfológicas e agrônômicas sejam úteis na avaliação da diversidade genética, elas são altamente influenciadas pelo ambiente e a coleta destas informações demanda grande quantidade de tempo. Análises bioquímicas, tais como isoenzimas e proteínas, são menos influenciados pelo ambiente mas apresenta variação limitada. Marcadores de DNA são alternativas atrativas, pois são praticamente ilimitados em número, apresentam alto grau de polimorfismo, independência entre os efeitos ambientais e o estágio fisiológico da planta e podem ser organizados dentro de mapa de ligação.

Os marcadores microssatélites, também denominados SSR (Simple Sequence Repeat), possibilitam ampla utilização nos programas de melhoramento, uma vez que são co-dominantes, multialélicos e capazes de fornecer um elevado nível de informação genética por loco (Lanza *et al.*, 2000).

Há vários trabalhos utilizando marcadores moleculares para estimar a diversidade genética entre acessos. Rongwen *et al.* (1992), utilizando marcadores microssatélites iniciaram um estudo de utilização destes marcadores para diferenciar genótipos no momento de registro e proteção de cultivares. Doldi *et al.* (1997), utilizaram marcadores RAPD e microssatélites para avaliar a diversidade genética de 18 genótipos de soja, concluíram que marcadores RAPD e SSR são úteis para avaliar a relação genética entre genótipos e comparar com dados de pedigree. Ude *et al.* (2003) determinaram o nível de divergência genética para marcadores AFLP entre e dentro de cultivares de soja norte americana e asiática e encontraram genótipos asiáticos com uma diferença genética significativa dos norte americanos.

O trabalho teve como objetivos: (1) avaliar a contribuição genética de cultivares antigas em cultivares recentes que apresentam alguma ancestralidade; (2) selecionar um conjunto de primers microssatélites capazes de diferenciar 21 cultivares; (3) obter informações de caráter de diversidade para a utilização no melhoramento; (4) realizar associação da diversidade estimada com base em informações fenotípica, de genealogia e de marcadores moleculares; e (5) estimar a distância genética entre as 21 cultivares.

1. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material genético

Foram utilizados 21 cultivares (Tabela 1) provenientes de diferentes programas de melhoramento, adaptadas a diferentes regiões do Brasil e do mundo e lançados no mercado em diferentes períodos. Na escolha dessas cultivares, foi utilizado como critério a genealogia e a época de lançamento. Procurou-se selecionar cultivares aparentadas com diferentes épocas, sendo que, a época de lançamento entre a mais antiga e a mais nova variou em torno de 40 anos.

2.2. Extração de DNA

A extração de DNA das 21 cultivares foram obtidas a partir de um bulk de dez sementes de cada cultivar. A extração foi realizada utilizando o protocolo descrito por McDonald *et al.* (1994), com algumas modificações.

Em tubos eppendorfs de 1,5 ml, contendo cerca de 50 mg de sementes moídas de cada unidade de análise, foram adicionados 700 µl de tampão de extração contendo Tris-HCl 0,2 M (pH 7,5), NaCl 0,28 M, EDTA 0,25 mM e SDS 10%. As amostras foram maceradas e em seguida centrifugadas a 14.000 rpm por 10 minutos. Os sobrenadantes foram transferidos para novos tubos, e em seguida, acrescentados 10 µl de proteinase K (10 mg/ml) e 10 µl CaCl₂ 1 mM, e colocados em banho maria a 55°C por 1,5 horas. Foram, então, adicionados às amostras 900 µl de isopropanol e deixadas em repouso por 2 min. Após este tempo as amostras foram centrifugadas por 10 min a 14.000 rpm. Os sobrenadantes foram descartados e os precipitados foram lavados uma vez com

álcool 70% e, uma segunda vez, com álcool 90%. Após as lavagens os precipitados foram colocados para secar em temperatura ambiente durante 15 min e, posteriormente, ressuspensos em TE (Tris HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8,0), contendo 60 µg/ml de RNase A e colocadas em banho maria por uma hora. As amostras foram precipitadas novamente pela adição de 900 µl de isopropanol por dois minutos. Logo após, as amostras foram novamente centrifugadas a 14.000 rpm por 10 min, e os sobrenadantes descartados. Os precipitados formados foram ressuspensos, ao final, em TE.

A qualidade do DNA foi estimada por espectrofotometria, considerando a razão A260/A280. A concentração foi estimada a partir da absorbância a 260 nm, conforme Sambrook *et al.* (1989).

O DNA concentrado de cada amostra foi armazenado a -20°C e diluído para a concentração de trabalho de 10 ng/µL e esta ficou armazenada a 5°C.

2.3. Marcadores SSR e condições de amplificação

Os marcadores microssatélites utilizados no trabalho, num total de 41, foram selecionados com base em informações de artigos e teses, que descreveram polimorfismos para estes primers (Tabela 2). As sequências dos primers *forward* e *reverse* para cada loco microssatélite amplificado estão descritas em Song *et al.* (2004), bem como a estrutura repetida para cada microssatélite.

As reações de microssatélite foram realizadas em um volume total da reação de 15 µL, contendo tampão de PCR (100 mM de Tris-HCl e 500 mM de KCl, pH 8,0) 2,5 mM de cada desoxirribonucleotídeo (dATP, dTTP, dGTP e dCTP), 20 mM de MgCl₂, 6 µM de cada primer (*forward* e *reverse*), uma unidade da enzima Taq polimerase e 40 ng de DNA molde.

As amplificações foram feitas em termocicladores Perkin Elmer (GeneAmp PCR System 9600) a 50°C por ciclo. Cada ciclo consistiu de desnaturação a 94°C durante 4 min, uma etapa de anelamento a 65°C por 40s, seguidos por 10 ciclos decrescendo 1°C por ciclo até 55°C, a partir da qual se

seguiram 30 ciclos a 55°C por 40s cada. Em cada ciclo foram mantidas as respectivas temperaturas de desnaturação (94°C/40s) e polimerização (72°C/1 min.). O final do programa consistiu de um ciclo de polimerização a 72°C por 7 min.

2.4. Estimativa do coeficiente de parentesco (CP)

O coeficiente de parentesco foi estimado entre as 21 cultivares utilizadas no trabalho, combinando-as duas a duas, totalizando 210 combinações de cultivares.

Algumas pressuposições foram adotadas para o cálculo do coeficiente de parentesco (CP): (1) as cultivares ancestrais foram consideradas não relacionadas: CP=0; (2) cultivar derivada de cruzamento simples recebeu metade de seus genes de cada pai: CP=0,5; (3) todos os pais foram considerados homozigotos e homogêneos; (4) foram considerados não correlacionados, pais cuja a genealogia não se conhecia: CP=0; (5) considerou CP=1 entre uma cultivar e ela própria; (6) considerou-se CP=0,75 entre uma cultivar e uma outra obtida a partir da seleção dessa; (7) considerou-se CP=0,56 entre duas seleções obtidas de uma mesma cultivar (Bowman *et al.*, 1997).

Utilizando os coeficientes de parentesco de cada par formado, foi calculada a contribuição genética de cada cultivar em relação a um grupo de cultivares formado de acordo com a data de lançamento.

2.5. Análise dos dados

A diversidade genética de cada loco microssatélite foi obtida através da frequência dos alelos presentes no loco da seguinte maneira:

$$\text{Informação do conteúdo de polimorfismo (PIC)} = 1 - j = 1 - \sum_{j=1}^n p_{ij}^2$$

Onde p é a frequência do j -ésimo alelo para o primer i (Anderson *et al.*, 1993). O valor da diversidade genética do loco é similar a heterozigosidade que é comumente utilizada para descrever a informatividade de um marcador molecular em populações.

As distâncias genéticas entre as cultivares, obtidas através de informações geradas por marcadores microssatélite, foram avaliadas por meio de uma matriz de dissimilaridade construída utilizando-se o complemento do índice de similaridade (IS) para variáveis co-dominantes/multialélicas, por meio do programa Genes versão Windows (CRUZ, 2001). Os escores foram estabelecidos conforme o número de alelos presentes. O índice foi obtido dividindo-se o número total de locos de microssatélites contendo alelos comuns pelo número total dos locos avaliados.

Para a obtenção da matriz de dissimilaridade através dos dados de coeficiente de parentesco, foi subtraído de 1 os valores do CP.

As distâncias genéticas provenientes dos valores fenotípicos foram obtidas considerando as características como multicategóricas, dando notas para cada escala de variação da informação fenotípica considerada.

A análise de agrupamento foi feita com base nas matrizes de dissimilaridade e obtidas pelos marcadores microssatélites, pelos coeficiente de parentesco e pelas características fenotípicas. Os métodos utilizados foram o UPGMA e a otimização de Tocher.

Tabela 1. Cultivares de soja, genealogia e algumas características fenotípicas

N°	Origem	Cultivares	Genealogia*	Cor da flor	Cor do hilo	Cor da pubescência	Hábito de crescimento	Ciclo
1	USA	Improved Pelican	PI 548461	Roxa	Marrom	Marrom	Indeterminado	Médio
2	UFV	Viçoja	D492491x I. Pelican	Roxa	Marrom	Marrom	Determinado	Médio
3	UFV	UFV-1	Seleção em Viçoja	Roxa	Marrom	Marrom	Determinado	Tardio
4	USA	Davis	D 49-2573 X N 45-1497	Branca	Marrom	Cinza	Determinado	Precoce
5	MONSOY	FT-12 Nissei	FT 9510 x Prata	Branca	Marrom	Marrom	Determinado	Médio
6	IAC	IAC-8	Linhagem F ₅ obtida do cruzamento Bragg x E 70-51	Roxa	Marrom	Marrom	Determinado	Medio
7	MONSOY	FT-Cristalina	Cruzamento natural em UFV-1	Roxa	Marrom	Cinza	Determinado	Tardio
8	Embrapa	Doko	Progenie F ₇ . obtida da população RB 72-1. proveniente de seis cruzamentos (E 70-46 x Pickett, E 70-47 x F 65-1376 e Davis x IAC 79308)	Branca	Preto	Marrom	Determinado	Tardio
9	UFV	UFV-17(Minas Gerais)	FT-12 x IAC-8	Roxa	Marrom	Marrom	Determinado	Tardio
10	UFV	UFV-19(Triângulo)	FT-12 x IAC-8	Branca	Preto	Marrom	Determinado	Médio
11	UFV	UFV-18(Patos de Minas)	FT-Cristalina x IAC-8	Roxa	Preto	Marrom	Determinado	Tardio
12	UFV	UFVS-2007	FT-Cristalina x Doko	Roxa	Marrom	Marrom	Determinado	Tardio
13	Embrapa	BRS-Tuiuiu	FT-Cristalina (4) x Doko	Roxa	Marrom	Marrom	Determinado	Tardio
14	MONSOY	FT-Cristalina RCH	FT-CRISTALINA (5) x EMBRAPA-20	Roxa	Marrom	Cinza	Determinado	Tardio
15	Embrapa	Conquista	Lo76-4484 x Numbaira	Roxa	Preto	Marrom	Determinado	Médio
16	Embrapa	Valiosa RR	Conquista (n) x RR	Roxa	Preto	Marrom	Determinado	Médio
17	Embrapa	Santa Rosa	D49-772 x La41-1219	Branca	Marrom	Marrom	Determinado	Médio
18	USA	Bragg	Jackson x D49-2491	Branca	Preto	Marrom	Determinado	Precoce
19	Embrapa	BR-IAC-21	IAC-8(6) x FT-Cristalina	Roxa	Preto	Marrom	Determinado	Médio
20	UFV	UFV-10 (Uberaba)	Santa Rosa x UFV-1	Roxa	Marrom	Marrom	Determinado	Tardio
21	UFV	UFVS-2301	[FT-Cristalina (6) x Doko] x FT-72285	Branca	Preto	Marrom	Determinado	Tardio

Tabela 2. Descrição dos microssatélites utilizados para caracterizar 21 genótipos de soja

	Loco	Estrut. Repetida	Grupo Ligação
1	Satt521	(ATT)12	N
2	Satt526	(ATT)9	A1
3	Satt531	(ATT)14	D1a
4	Satt180	(ATT)16	C1
5	Satt181	(ATT)18	H
6	Satt302	(ATT)12	H
7	Satt102	(ATT)11	K
8	Satt571	(ATT)14	I
9	Satt417	(ATT)18	K
10	Satt108		
11	Satt237	(ATT)17	N
12	Satt192	(ATT)32	H
13	Satt070	(ATT)24	B2
14	Satt200	(ATT)17	A1
15	Satt336	(ATT)14	M
16	Satt464	(ATT)16	D2
17	Satt191	(ATT)18	G
18	Satt079	(ATT)13	C2
19	Satt100	(ATT)33	C2
20	Satt304	(ATT)29	B2
21	Satt142	(ATT)21	H
22	Satt077	(ATT)12	D1a
23	Satt335	(ATT)12	F
24	Satt215	(ATT)11	J
25	satt263	(ATT)19	E
26	Satt492	(ATT)15	O
27	Satt211	(ATT)10	A1
28	Satt242	(ATT)26	K
29	Satt285	(ATT)19	J
30	Satt215	(ATT)11	J
31	Satt309	(ATT)13	G
32	Satt487	(ATT)22	O
33	Satt182	(ATT)17	L
34	Satt177	(ATT)16	A2
35	Sct_189	(CT)17	I
36	Satt406	(ATT)31	J
37	Satt173	(ATT)18	O
38	Satt256	(ATT)10	D2
39	Satt001	(ATT)25	K
40	Satt113		
41	Satt170	(ATT)10	C2
42	Satt146	(ATT)17	F

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na caracterização das 21 cultivares utilizando 38 de 41 marcadores microssatélites mostraram-se polimórficos para o grupo de cultivares utilizado (Tabela 3). Foram identificados 106 alelos com uma média de 2,52 alelos por loco SSR. Os microssatélites Satt 263, 192, 070 e Sct_189 foram os que apresentaram um maior polimorfismo com 5, 4, 4 e 4 alelos por loco, respectivamente. Yamanaka *et al.*, (2007) utilizaram 12 pares de primers microssatélites para verificar a relação genética entre cultivares de soja brasileira, chinesa e japonesa e obtiveram 82 alelos para um grupo de 272 cultivares com média de 6,83 alelos por loco. Priolli *et al.* (2002), em trabalho de caracterização de 186 cultivares de soja brasileira, encontraram um número médio de alelos por loco de 5,3.

A informação do conteúdo de polimorfismo (PIC), calculada para estimar a informatividade de cada loco microssatélite variou de 0 a 0,68 com uma média de 0,38. Trabalhos conduzidos por Rongwen *et al.*, (1995) utilizando sete primers microssatélites para caracterizar 96 genótipos de soja, apresentaram uma alta diversidade genética de 0,71 a 0,95, explicada pela utilização de materiais introduzidos e de outras espécies (*Glycine max* e *Glycine soja*).

Tabela 3. Número de alelos por locus microssatélite e conteúdo de informação polimórfica (PIC) para 21 genótipos de soja lançados ao longo de 40 anos de melhoramento

	Locos	Sequência de bases (5'-3')	Estrutura repetida	Grupo de ligação	Nº de alelos	PIC
1	Satt521	GCGCTTCACTCTGGTGTAGTGTAG GCGTTAGATAACGACACATTATTA	(ATT) ₁₂	N	2	0,3744
2	Satt526	GCGGCAAATTCTAATGACTG GTCGGAGTTCTCAGTCTACCTGTC	(ATT) ₉	A1	2	0,3658
3	Satt531	GCATGCAACTGAGGGAGCAGAT GCCACAAATTATGCAGAATATA	(ATT) ₁₄	D1a	2	0,0866
4	Satt180	TCGCGTTTGTGAGC TTGATTGAAACCCAACTA	(ATT) ₁₆	C1	2	0,3119
5	Satt181	TGGCTAGCAGATTGACA GGAGCATAGCTGTTAGGA	(ATT) ₁₈	H	2	0,3457
6	Satt302	GCGAACTGTAGTTTACTAAAAATAAGTG GCGGACTGAATTAATATTGGTGTGAATT	(ATT) ₁₂	H	2	0,3648
7	Satt102	CACCTTGCTTCAAATTC AATAAGTGAGAGCATAGAAAATAC	(ATT) ₁₁	K	2	0,1575
8	Satt571	GGGTAGGGGTGGAATATAAG GCGGGATCCGCGGATGGTCAAAG	(ATT) ₁₄	I	3	0,2051
9	Satt417	TCTTGCTAATTGCTTCATTTTCAT AATTGCTTGGGATTTTCATTT	(ATT) ₁₈	K	3	0,3267
10	Satt108				3	0,4783
11	Satt237	GCGTGATTTCAATCCTTTTTTC GCGGTTGTCCTGTTAGAACCT	(ATT) ₁₇	N	3	0,5400
12	Satt192	CACCGCTGATTAAGATTTTT CGCTGAGTTGTTTTTCATC	(ATT) ₃₂	H	4	0,5915
13	Satt070	TAAAAATTAATACTAGAAGACAAC TGGCATTAGAAAATGATATG	(ATT) ₂₄	B2	4	0,5854

14	Satt200	TTTCATTTCTTTGCCTTCT TTCGTAGTCCGTCTTTTCAT	(ATT) ₁₇	A1	3	0,5594
15	Satt336	AATTGGAGTGGGTACACAC TTCCCGGAAAGAAAGAAA	(ATT) ₁₄	M	3	0,5668
16	Satt464	GGGTTGGGAGAATTTAGGTT TTTTGCATTAAAGGCTAATATGAA	(ATT) ₁₆	D2	2	0,3739
17	Satt191	CGCGATCATGTCTCTG GGGAGTTGGTGTTCCTTGTG	(ATT) ₁₈	G	3	0,3092
18	Satt079	AGTCGAAGATACACAATTAGAT CTTTTAGACACAAATTTATCACT	(ATT) ₁₃	C2	3	0,5547
19	Satt100	ACCTCATTTTGGCATAAA TTGGAAAACAAGTAATAATAACA	(ATT) ₃₃	C2	3	0,4236
20	Satt304	GGGTAGTGACGTATTTTCATGGTC GCGTAAAAACATTTCGTTGACTACATAA	(ATT) ₂₉	B2	2	0,3374
21	Satt142	GGACAACAACAGCGTTTTTAC TTTGCCACAAAGTTAATTAATGTC	(ATT) ₂₁	H	2	0,3515
22	Satt077	GATCTAAAGTCTGATATTTTTAACTA AAAAGGAGAAGGAATGC	(ATT) ₁₂	D1a	3	0,4065
23	Satt335	CAAGCTCAAGCCTCACACAT TGACCAGAGTCCAAAGTTCATC	(ATT) ₁₂	F	3	0,5578
24	Satt215	GCGCCTTCTTCTGCTAAATCA CCCATTCAATTGAGATCCAAAATTAC	(ATT) ₁₁	J	3	0,5313
25	satt263	CACCCAATCATGATAGCATTTTAT CTCATGGAATTGTCTTTCAGTTTC	(ATT) ₁₉	E	5	0,6808
26	Satt492	GTATCGTTTCGCGTCTTGAGTC GCAGCGGTGTAGTTCGTTCTTTCT	(ATT) ₁₅	O	2	0,3698
27	Satt211	GAAAAAGCCCACATCCAA CATGGGCATGCAGTAACA	(ATT) ₁₀	A1	2	0,2149
28	Satt242	GCGTTGATCAGGTTCGATTTTTATTTGT	(ATT) ₂₆	K	3	0,4898

		GCGAGTGCCAACTAACTACTTTTTATGA				
29	Satt285	GCGACATATTGCATTAACATACTT GCGGACTAATTCTATTTTACACCAACAAC	(ATT) ₁₉	J	2	0,329
30	Satt215	GCGCCTTCTTCTGCTAAATCA CCCATTCAATTGAGATCCAAAATTAC	(ATT) ₁₁	J	3	0,5313
31	Satt309	GCGCCTTCAAATTGGCGTCTT GCGCCTTAAATAAAACCCGAAACT	(ATT) ₁₃	G	2	0,3457
32	Satt487	ATCACGGACCAGTTCATTTGA TGAACCGCGTATTCTTTTAATCT	(ATT) ₂₂	O	3	0,3586
33	Satt182	GGTCCACATGAAATGAAGGT TCTCAGCCTGCAAAGAAAA	(ATT) ₁₇	L	2	0,3515
34	Satt177	CGTTTCATTCCCATGCCAATA CCCGCATCTTTTTCAACCAC	(ATT) ₁₆	A2	3	0,5594
35	Sct_189	CTTTTCCTGGCAATGAT AAAATCGCAAACCTTAGT	(CT) ₁₇	I	4	0,5471
36	Satt406	GCGTGAGCATTTTTGTTT TGACGGGTTTAATAGCAT	(ATT) ₃₁	J	3	0,5564
37	Satt173	TGCGCCATTTATTCTTCA AAGCGAAATCACCTCCTCT	(ATT) ₁₈	O	3	0,5439
38	Satt256	GCGATGCATAAATTAGACACAT CCACTGCTTCATCACATTCACAC	(ATT) ₁₀	D2	2	0,3687
39	Satt001	AAAGTCTTTAAAGTGTGTCTTA TTAAAAGAAAAATGCAACAT	(ATT) ₂₅	K	1	0
40	Satt113				1	0
41	Satt170	GGGAAATCTAAATAAAATGATGGATAT GGGGTAGTTAAAATTCATCCTTAAAA	(ATT) ₁₀	C2	1	0
42	Satt146	AAGGGATCCCTCAACTGACTG GTGGTGGTGGTGAAAATATTAGAA	(ATT) ₁₇	F	1	0

Tabela 4. Diferenciação de 21 cultivares de soja com base em seis marcadores microssatélites

	Genótipos\Locos ^{1/}	Satt263	Satt192	Satt070	Satt100	Satt108	Satt215
1	Improved Pelican	A	A	A	A	A	A
2	Viçoja	B	A	*	*	B	B
3	UFV-1	B	A	A	B	B	B
4	Davis	C	B	B	B	C	B
5	FT-12 Nissei	B	B	C	B	B	C
6	IAC-8	D	C	D	C	A	B
7	FT-Cristalina	B	A	A	B	C	B
8	Doko	E	C	D	B	A	C
9	UFV-17	D	B	C	C	A	C
10	UFV-19	B	B	D	B	B	B/C
11	UFV-18	D	C	A	C	B	B
12	UFVS-2007	B	A	A	B	C	C
13	BRS-Tuiuiú	B	C	A	B	B	B
14	FT-Cristalina RCH	B	A	D	*	B	C
15	Conquista	A	B	C	A	A	A
16	Valiosa RR	C	B	*	B	B	B
17	Santa Rosa	D	C	D	C	B	B
18	Bragg	E	C	D	B	B	C
19	BR-IAC-21	D	B/C	D	B	B	C
20	UFV-10	A	A	D	B	B	A
21	UFVS-2301	B	B	D	B	B	*

* Dados perdidos

1/- Em cada loco, os diferentes alelos foram identificados por ordem alfabética na coluna e em ordem decrescente de tamanho de fragmento de DNA, tendo o maior fragmento recebido a letra A.

Narvel *et al.* (2000) trabalharam com 74 primers microssatélites para estimar a diversidade entre variedades elites de soja e alguns acessos, encontrou valores de PIC variando de 0 a 0,84 com média de 0,56 nos acessos utilizados e de 0 a 0,79 com média de 0,50 nas variedades elites, sendo um bom indicativo de que grupos de genótipos com uma base genética estreita apresentam uma menor diversidade genética.

Priolli *et al.* (2004), conduzindo um trabalho para estimar a diversidade genética entre períodos e entre programas de melhoramento no Brasil, encontraram um valor de diversidade genética médio para diferentes programas de melhoramento de 0,63.

Para obter informações de diversidade foi obtida a matriz de dissimilaridade, a partir de informações de marcadores microssatélites, com 210 combinações geradas a partir de 21 cultivares. A dissimilaridade genética

calculada variou de 0,0769 a 0,7631. Os valores de dissimilaridade indicam o quanto um par de cultivares são diferentes quanto ao seu conteúdo genético. Assim, o menor valor de dissimilaridade foi obtido entre as cultivares Viçoja e UFV-1, o que é concordante com as suas genealogias, pois UFV-1 é uma seleção em Viçoja. O maior índice de dissimilaridade obtida foi entre as cultivares UFV-1 e Conquista, e entre estas não há nenhuma relação de parentesco com a cultivar UFV-1. Foram também obtidas as matrizes de dissimilaridade utilizando informações da genealogia e de caracteres fenotípicos.

Na Figura 1 observa-se que a dissimilaridade dos pares de cultivares obtidas por marcadores microssatélites estão em torno de 0,4 a 0,6, quando se utiliza o coeficiente de parentesco os valores de dissimilaridade ficam em torno de 0,8 a 1,0 e utilizando informações de caracteres fenotípicos os valores de dissimilaridade ficam entre 0,0 a 0,4. Estes resultados indicam que para o grupo de cultivares utilizado no trabalho, a maior divergência entre elas é detectada utilizando o coeficiente de parentesco. Provavelmente a genealogia de cada cultivar está superestimando os valores de dissimilaridade genética, pois muitos trabalhos afirmam que a base genética da soja é estreita.

Resultados de outros trabalhos também tem revelado o mesmo raciocínio quando se utiliza coeficiente de parentesco, ou seja, uma maior diversidade genética é detectada quando se utiliza este. Como é o caso do trabalho de Bertini (2004). Estes autor, trabalhando com algodão, encontrou maior diversidade genética utilizando coeficientes de parentesco. Neto (2005) avaliou e caracterizou 100 acessos de soja de um banco ativo de germoplasma utilizando marcadores microssatélites, avaliação morfológica e informação da genealogia, e verificou que o coeficiente de parentesco possui maior formação de grupos, entretanto possui um viés elevado quando comparado com os outros métodos de avaliação.

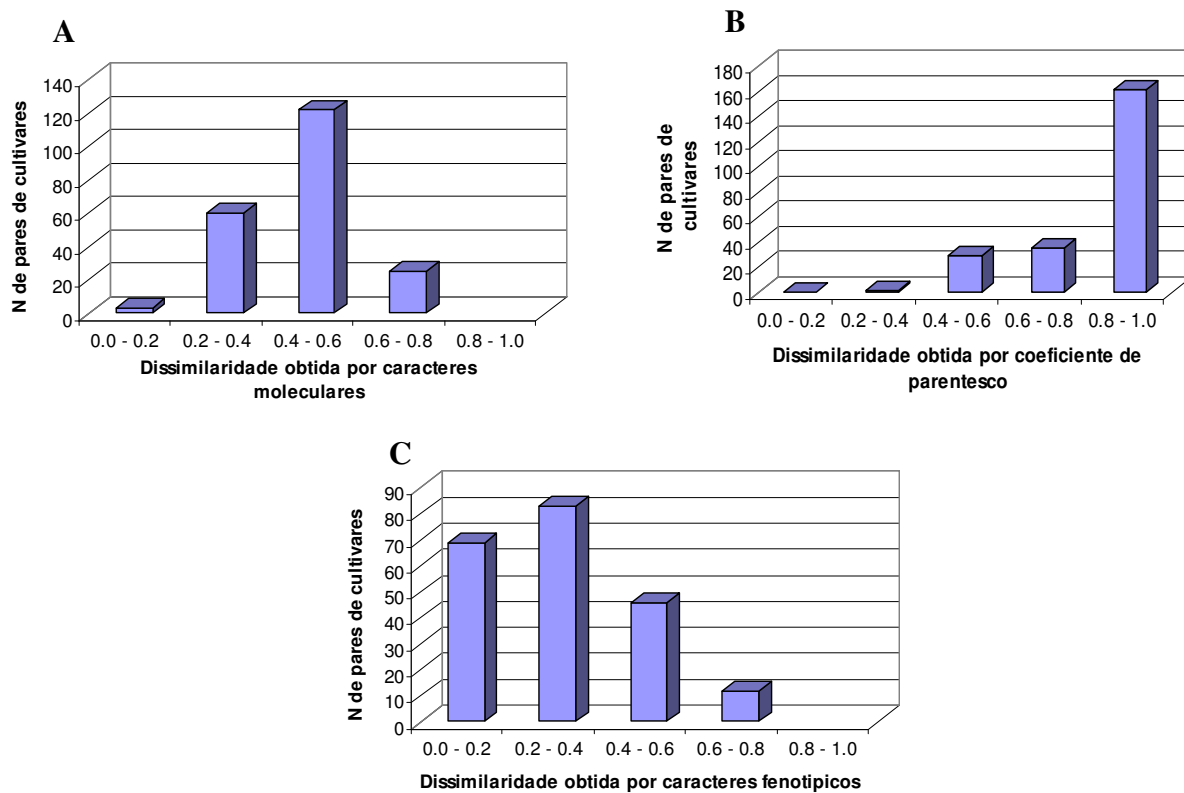


Figura 1 – Distribuição gráfica das distâncias genéticas para os 210 pares de cultivares avaliados por marcadores microssatélites (A), Coeficiente de parentesco (B) e por características fenotípicas (C).

Com o objetivo de facilitar as interpretações dos resultados de dissimilaridade utilizando marcadores microssatélites, foi criada uma tabela com valores médios de dissimilaridade. Primeiramente as 21 cultivares foram agrupadas em três grupos, cultivares antigas, intermediárias e recentes, utilizando como critério a época em que cada cultivar foi desenvolvida, ou seja, Improved Pelican, Bragg, Viçosa, UFV-1, Davis e Santa Rosa foram agrupadas no grupo das cultivares antigas, UFV-10, FT-12, IAC-8, FT-Cristalina e Doko no grupo das intermediárias e UFV-17, UFV-18, UFV-19, BR-IAC-21, UFVS-2007, BRS-Tuiuiú, FT-Cristalina-RCH, ValiosaRR e Conquista ficaram no grupo das recentes. Em seguida, foi obtida a média da dissimilaridade de cada cultivar com cada grupo formado, como pode ser visualizado na Tabela 5.

Tabela 5. Dissimilaridade média entre grupos de soja, antigas, intermediárias e recentes com base marcadores microssatélites

	Cultivares	Antigas	Intermediárias	Recentes
Antigas	Improved Pelican	0,6792	0,6566	0,6495
	Bragg	0,6151	0,5792	0,6198
	Viçoja	0,5242	0,6170	0,5571
	UFV-1	0,5019	0,5830	0,5259
	Davis	0,6830	0,6000	0,5764
	Santa Rosa	0,6358	0,5453	0,5717
	Média	0,6065	0,5969	0,5834
Intermediárias	UFV-10	0,6116	0,6439	0,6052
	FT-12 (nissei)	0,6509	0,6391	0,5604
	IAC-8	0,5786	0,6108	0,5660
	FT-Cristalina	0,5377	0,6557	0,5137
	Doko	0,6006	0,6157	0,6066
	Média	0,5959	0,6330	0,5704
Recentes	UFV-17	0,6085	0,5500	0,5949
	UFV-18	0,5204	0,5547	0,5241
	UFV-19	0,5629	0,4849	0,5220
	BR-IAC-21	0,6061	0,5632	0,5681
	UFVS-2007	0,5079	0,5283	0,5278
	BRSMS-Tuiuiú	0,5000	0,5302	0,5441
	FT-Cristalina RCH	0,5645	0,5415	0,5026
	Valiosa RR	0,5723	0,6170	0,6195
	Conquista	0,7170	0,6698	0,7248
	UFVS-2301	0,6745	0,6641	0,6247
Média	0,5834	0,5704	0,5753	

De acordo com a Tabela 5 pode-se inferir que ao comparar as cultivares pertencentes ao grupo das antigas com ela mesma, com o grupo das intermediárias e das recentes houve um leve decréscimo no valor médio de dissimilaridade com o passar dos anos, podendo indicar um estreitamento da base genética. Em contrapartida, observando os valores médios de dissimilaridade do grupo cultivares recentes com elas mesmas e com os outros dois grupos, pode-se verificar que a cultivar Conquista, considerada como

recente, apresenta um valor de dissimilaridade média relativamente alto, indicando ser uma cultivar que deve ser incluída nos blocos de cruzamentos, para gerar uma dissimilaridade importante em um programa de melhoramento de soja. Com o grupo de cultivares utilizados pode-se verificar que a variabilidade genética manteve-se a mesma ao longo de mais de 40 anos de melhoramento.

A partir das medidas de dissimilaridade utilizando informações de marcadores microssatélites, de genealogia e caracteres fenotípicos foi obtido dendogramas utilizando o método de UPGMA. Considerando um limite superior de 70%, o agrupamento utilizando informações de marcadores microssatélites formou 10 grupos, contendo cada um diferentes números de cultivares (Figura 2). Utilizando um limite superior de 30% formou-se 7 grupos utilizando informações de coeficiente de parentesco e 7 grupos utilizando informações de caracteres fenotípicos com um limite superior de 35%. Para facilitar o entendimento dos dendogramas, os mesmos foram compilados para a forma de tabela (Tabela 6).

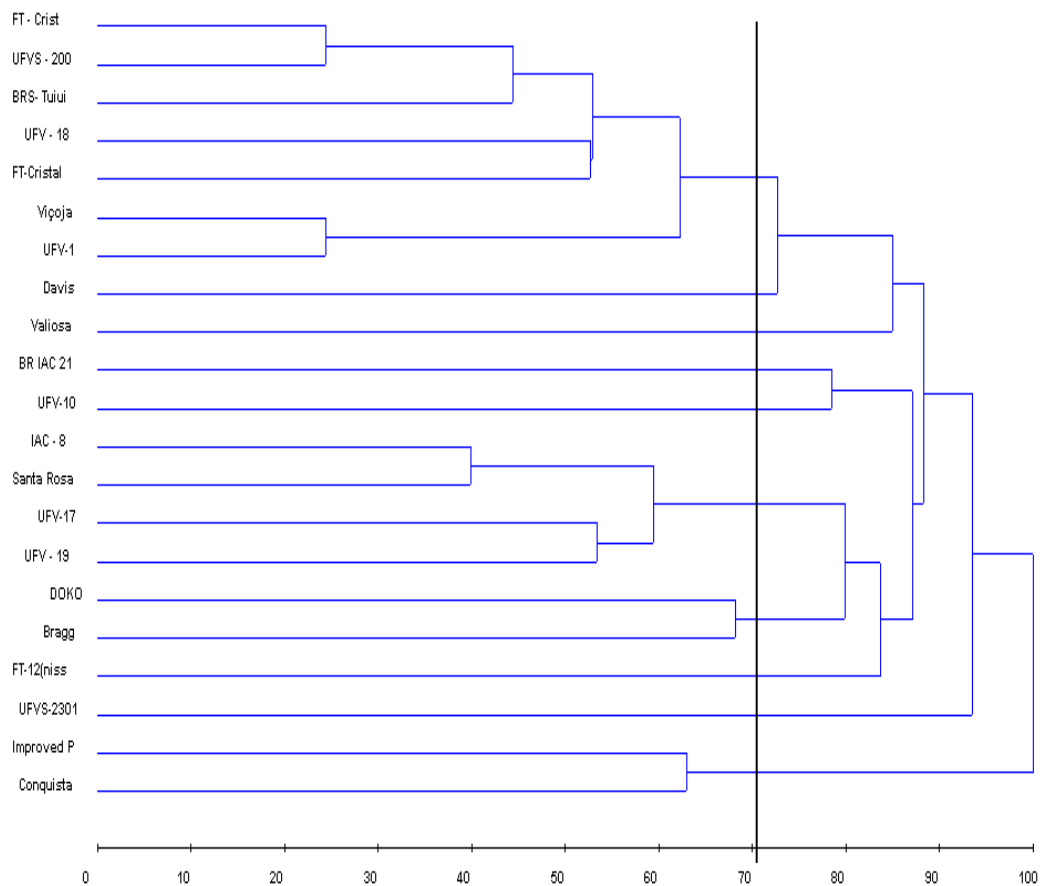


Figura 2. Dendrograma construído com base nas medidas de dissimilaridade de 21 cultivares, obtidas pela análise molecular, utilizando o método das médias das distâncias (UPGMA).

Tabela 6. Grupos obtidos para as 21 cultivares de soja pelo método das médias das distâncias (UPGMA) com base nas medidas de dissimilaridade calculadas utilizando informações de microssatélites (A), coeficiente de parentesco (B) e caracteres fenotípicos (C).

A

Grupos	Marcadores Microssatélites
1	FT-Cristalina, UFVS-2007, BRS-Tuiuiú, UFV-18, FT-Cristalina RCH, Viçoja e UFV-1
2	Davis
3	ValiosaRR
4	BR-IAC-21
5	UFV-10
6	IAC-8, Santa Rosa, UFV-17 e UFV-19
7	Doko e Bragg
8	FT-12 Nissei
9	UFVS-2301
10	Improved Pelican e Conquista

B

Grupos	Coefficiente de Parentesco
1	Doko e UFVS-2301
2	Viçoja, UFV-10, UFV-1, Bragg, FT-Cristalina RCH, FT-12 Nissei, Conquista, Improved Pelican, BR-IAC-21, FT-Cristalina e Santa Rosa
3	IAC-8 e UFVS-2007
4	Davis, ValiosaRR e UFV-19
5	UFV-17
6	UFV-18
7	BRS-Tuiuiú

C

Grupos	Caracteres Fenotípicos
1	Doko, UFV-19, Bragg e UFVS-2301
2	FT-Cristalina, FT-Cristalina RCH, BRS-Tuiuiú, UFV-10
3	UFV-1, UFV-17, UFV-18 e UFVS-2007
4	FT-12 Nissei, ValiosaRR e Santa Rosa
5	Viçoja, IAC-8, Conquista e BR-IAC-21
6	Improved Pelican
7	Davis

Objetivando obter grupos mutuamente exclusivos, foi utilizado o método de otimização de Tocher, que formou oito grupos utilizando informações moleculares, 15 grupos utilizando informações de coeficiente de parentesco e 3 grupos utilizando caracteres fenotípicos (Tabela 7).

Tabela 7. Grupos obtidos para as 21 cultivares de soja pelo agrupamento de Tocher com base nas medidas de dissimilaridade calculadas utilizando informações de microssatélites (A), coeficiente de parentesco (B) e caracteres fenotípicos (C).

A

Grupos	Marcadores Microssatélites
1	Viçoja, UFV-1, BRS-Tuiuiú, UFVS-2007, FT-Cristalina, FT-Cristalina RCH, UFV-18 e Davis
2	IAC-8, Santa Rosa, UFV-19 e UFV-17
3	Improved Pelican e Conquista
4	Doko e Bragg
5	FT-12 Nissei e BR-IAC-21
6	UFVS-2301
7	UFV-10
8	ValiosaRR

B

Grupos	Coefficiente de Parentesco
1	Improved Pelican, Viçoja, UFV-1, Davis, FT-12 Nissei, FT-Cristalina e Doko
2	FT-Cristalina RCH
3	IAC-8
4	UFV-17
5	UFV-19
6	UFV-18
7	BRS-Tuiuiú
8	Santa Rosa
9	UFV-10
10	UFVS-2301
11	UFVS-2007
12	Conquista
13	ValiosaRR
14	Bragg
15	BR-IAC-21

C

Grupos	Características Fenotípicas
1	Viçoja, Improved Pelican, UFV-1, IAC-8, UFV-17, UFVS-2007, BRS-Tuiuiú, UFV-10, FT-Cristalina, FT-Cristalina RCH, UFV-18, Conquista, ValiosaRR e BR-IAC-21
2	FT-12 Nissei, Santa Rosa, UFV-19, Doko, UFVS-2301 e Bragg
3	Davis

Observando a Tabela 8, verifica-se que cultivares que apresentam a mesma genealogia não estão agrupadas utilizando informações de coeficiente de parentesco, que é o caso de UFV-17 e UFV-19, que por outro lado utilizando informações moleculares elas se encontram no mesmo grupo, já pelas características fenotípicas elas não se encontram no mesmo grupo devido apresentarem cor de flor, cor de hilo e ciclo diferentes.

Verifica-se que as cultivares FT-Cristalina e FT-Cristalina RCH estão sempre no mesmo grupo independente do método de avaliação utilizado, o mesmo acontece para as cultivares Viçoja e UFV-1 utilizando somente informações moleculares e de coeficiente de parentesco.

As cultivares Conquista e ValiosaRR apesar de não apresentarem primeiramente nenhum parentesco com as demais cultivares e a cultivar ValiosaRR ser originado de Conquista, elas não se encontram agrupadas em nenhum dos métodos de avaliação utilizados.

Tabela 8. Comparação dos grupos obtidos pelo método UPGMA, entre as avaliações por microssatélites, coeficiente de parentesco e caracteres fenotípicos, para 21 cultivares de soja

Grupos	Microssatélites	Coeficiente de parentesco	Caract. fenotípicas
1	7, 12, 13, 11, 14, 2 e 3	8 e 21	8, 10, 18 e 21
2	4	2, 20, 3, 18, 14, 5, 15, 1, 19, 7 e 17	7, 14, 13 e 20
3	16	6 e 12	3, 9, 10 e 12
4	19	4, 16 e 10	5, 16 e 17
5	20	9	2, 6, 15 e 19
6	6, 17, 9 e 10	11	1
7	8 e 18	13	4
8	5		
9	21		
10	1 e 15		

Na avaliação da Tabela 9 utilizando o método de agrupamento de Tocher, verifica-se que utilizando informações de coeficiente de parentesco houve uma formação de uma grande quantidade de grupos, apesar de, algumas cultivares terem parentais em comum, já utilizando características fenotípicas observou a formação de somente 3 grupos.

Verifica-se que as cultivares UFV-17 e UFV-19 apresentam-se em grupos diferentes utilizando coeficiente de parentesco e no mesmo grupo utilizando características moleculares.

Tabela 9 – Comparação dos grupos obtidos pelo método de Tocher, entre as avaliações por microssatélites, coeficiente de parentesco e caracteres fenotípicos, para 21 cultivares de soja

Grupos	Microssatélites	Coeficiente de parentesco	Caract. fenotípicas
1	2, 3, 13, 12, 7, 14, 11 e 4	1, 2, 3, 4, 5, 7 e 8	2, 6, 1, 3, 9, 12, 13, 20, 7, 14, 11, 15, 16 e 19
2	6, 17, 9 e 10	14	5, 17, 10, 8, 21 e 18
3	1 e 15	6	4
4	8 e 18	9	
5	5 e 19	10	
6	21	11	
7	20	13	
8	16	17	
9		20	
10		21	
11		12	
12		15	
13		16	
14		18	
15		19	

Uma justificativa para que cultivares apresentando progenitores em comum terem sido alocadas em grupos diferentes, pelo coeficiente de parentesco é que a estimativa de coeficiente de parentesco pressupõe que os progenitores não sejam aparentados, o que leva afirmar que estimativas de similaridade e dissimilaridade obtidas pelo coeficiente de parentesco são bastante viesadas.

Utilizando informações de marcadores microssatélites verificou-se que houve o agrupamento de cultivares que apresentam parentais em comum e as que não apresentavam parentais em comum, isso porque marcadores microssatélites são herdados de forma co-dominante e as estimativas geradas por eles são mais informativas e menos viesadas que estimativas geradas por coeficiente de parentesco e caracteres fenotípicos. Além disso, as estimativas geradas pelos microssatélites leva em consideração os efeitos da seleção praticada ao longo das gerações de melhoramento.

Com os seis primers Satt 192, Satt263, Satt070, Satt100, Satt108 e Satt215 dos 41 utilizados no trabalho foi possível diferenciar as 21 cultivares de soja, como pode ser visto na Tabela - 4. A cultivar UFV-19 e BR-IAC-21 apresentaram 2 alelos no loco Satt215 e Satt192 respectivamente, podendo ser um indicativo de que as variedades não são uma linha pura ou que havia impureza na amostra coletada.

4. CONCLUSÕES

Com os estudos realizados no presente trabalho foi possível verificar a contribuição das cultivares consideradas como antigas para as cultivares consideradas como intermediárias e recentes, afirmando que dentro do grupo de cultivares utilizado a variabilidade genética manteve-se a mesma ao longo de quase 40 anos de melhoramento.

Com a combinação dos 6 primers microssatélites Satt 192, Satt263, Satt070, Satt100, Satt108 e Satt215 foi possível diferenciar as 21 cultivares utilizadas neste trabalho.

Com as análises de diversidade realizadas foi possível observar que dentre as cultivares consideradas como recentes ainda existe variabilidade genética útil ao melhoramento de plantas. Dentre as cultivares utilizadas a Conquista foi a que apresentou a maior dissimilaridade quando comparada com as outras cultivares.

Dentre as três informações utilizadas no trabalho, marcadores microssatélites, coeficiente de parentesco e caracteres fenotípicos, para realizar estudos de diversidade, os marcadores microssatélites foram os que apresentaram estimativas menos viesadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDELNOOR R. V.; BARROS E. G.; MOREIRA M. A. Determination of diversity within Brazilian soybean germplasm using random amplified polymorphic DNA techniques and comparative analysis with pedigree data. **Brazilian Journal of Genetics**. v. 18 p.1265-273, 1995.
- AKKAIA, M.S.; BHAGWAT. A.A.; CREAGAN. P.B. Length polymorphism of simple sequence repeat DNA in soybean. **Genetics**. v.132, n.3, p. 1131-1139. 1992.
- ALLARD, R. W.; BRADSHAW. A. D. Implications of genotype-environment interactions in applied plant breeding. **Crop Science**. v.4, n.5, p. 503-507. 1964.
- ALLARD, R.W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. Rio de Janeiro: USAID/Edgard Blucher. 1971. 381p.
- ALLIPRANDINI. L. F.; TOLEDO. J. F. F.; FONSECA JÚNIOR. N.; ALMEIDA. L.; KIIHL. S. Efeitos da interação genótipo x ambiente sobre a produtividade da soja no Estado do Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília. v. 29. n. 9. p. 1433-1444. set. 1998.
- AMPESSAN. J. **Estabilidade de produção de grãos e correlações entre caracteres agronômicos de genótipos de soja no cerrado de Minas Gerais**. 2003. 126p. Viçosa-MG. Tese Mestrado em Genética e Melhoramento. Universidade Federal de Viçosa.
- ANDERSON, J. D.; BAKER, J. E. Deterioration of seeds during aging **Phytopathology**, v. 73 (2), p. 321-325, 1983.
- ANDERSON, J.A; CHURCHILL, G.A.; AUTRIQUE, J.E.; TANKSLEY, S.D.; SORRELS, M.E. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. **Genome**, v.36, p.181-186, 1993.
- ANGELO. P.C.S. **Marcadores moleculares relacionados com dias para florescimento em soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. Viçosa. MG: UFV. 1995. 86p. Dissertação (Mestrado em agroquímica) – 1995.
- ANNICCHIARICO. P. Cultivar adaptation and recommendation from alfalfa trials in Northern Italy. **J. Genet. & Breed**. 46: p. 269-278. 1992.

- ARANTES. N E. **Interação genótipo x ambiente e estudo de alternativas para seleção de variedades de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). com base em testes regionais.** Tese de Mestrado. Viçosa. Universidade Federal de Viçosa. 1979. 51p.
- ARIAS. E.R.A. **Adaptabilidade e estabilidade das cultivares de milho avaliadas no Estado de Mato Grosso do Sul e avanço genético obtido no período de 1986/87 a 1993/94.** Lavras. MG: UFLA. 1996. 118p. Tese doutorado – Universidade Federal de Lavras. 1996.
- ARRUDA. M.C. **Resistência do feijoeiro comum à antracnose:herança. identificação de marcadores moleculares e introgressão de gene C0-4 no cultivar Rudá.** Viçosa. MG: UFV. 1998. 101p. Dissertação (Melhoramento em Genética e Melhoramento).
- AZEVEDO. V.H. **Estratificação ambiental. adaptabilidade e estabilidade de produção de grãos de genótipos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) nos Estados de Minas Gerais. Mato Grosso e São Paulo.** 2004. 140p. Viçosa-MG. Tese Doutorado em Genética e Melhoramento. Universidade Federal de Viçosa.
- BARANEK. M.; KADLEC. M.; RADDOVA. J.; VACHUN. M.; PIDRA. M. Evaluation of genetic diversity in 19 *Glycine max* (L.) Merrill accessions included in the Czech National Collection of Soybean Genotypes. **Czech J. Genet. Plant Breed.**.v. 38. p. 69–74. 2002.
- BERTINI, C. H. M. **Caracterização e análise de diversidade genética em algodoeiro herbáceo por marcadores microssatélites e genealogia.** Tese: Doutorado. Viçosa: UFV, 109p., 2004.
- BODANESE-ZANETTINI. M.H.; LAUXEN. M.S.; RICHTER. S.N.C.; CAVALLI-MOLINA.S.; LANGE. C.E.; WANG. P.J. HU. C.Y. Wide hybridization between Brazilian soybean cultivars and wild perennial relatives. **Theoretical Applied Genetics.** Berlin. v.93. n.5. p.703-709. 1996.
- BONATO, A.L.V. **Avaliação da diversidade genética entre cultivares brasileiras de soja, através de marcadores AFLP.** 2000. 89p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- BONATO. E. R. **Estabilidade fenotípica da produção de grãos de dez cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) nas condições do Rio Grande do Sul.** Piracicaba: ESALQ/USP. 75p. 1978. (Tese de Mestrado).
- BONETTI, L.P. Cultivares e seu melhoramento genético. In: VERNETTI, F.J. **Soja - genética e melhoramento.** Campinas: Fundação Cargill, p.741-800. 1983.
- BORÉM. A. **Melhoramento de plantas.** Vicosa: Editora UFV – Universidade Federal de Viçosa. 547p. 1997.

- CARNEIRO. P.C.S. **Novas metodologias de análise da adaptabilidade e estabilidade de comportamento**. 1998. 168p. Viçosa-MG. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-graduação em Genética e Melhoramento. Universidade Federal de Viçosa.
- CARVALHO. C.G.P.; ARIAS. C.A.A.; TOLEDO. J.F.F.; ALMEIDA L.A.; KIIHL. R.A.S.; E OLIVEIRA.M.F. Interação genótipo x ambiente no desempenho produtivo da soja no Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília. v.37. n.7. p.989-1000. 2002.
- CARVALHO. G.A.; SEDIYAMA. T.; MARIN. A.L.A.; BARROS. E.G.; MOREIRA. M.A. Identificação de marcadores moleculares RAPD ligados a um gene de resistência a cancro da haste da soja. **Fitopatologia Brasileira**. v.27. n.3. p.474-478. 2002.
- CHARLSON. D.V.; BAILEY. T.B.; CIANZIO. S.R.; SHOEMAKER. R.C. Molecular Marker Satt 481 is associated with iron-deficiency chlorosis resistance in a soybean breeding population. **Crop Science**. v.45. p.2394-2399. 2005.
- CHAVES. L. J. Interação de genótipos com ambientes. In: Nass. L.L.; Valois. A.C.C.; Melo. I.S.; Valadares-Inglis. M.C. (Ed.). **Recursos genéticos & melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT. p.816-858. 2001.
- CHEN. Y.; NELSON. R.L. Relationship between origin and genetic diversity in Chinese soybean germplasm. **Crop Science**. V.45. p.1645-1652. 2005.
- CONAB. Soja – Brasil. série histórica de área plantada e produção; Disponível na world wide web: **www.conab.gov.br**. acessado em: 02-06-2007.
- CONCIBIDO, V.C.; DENNY, R.L.; BOUTIN, S.R.; HAUTEA, R.; ORF, J.H. e YOUNG, N.D. DNA marker analysis of loci underlying resistance to soybean cyst nematode (*Heterodera glycines* Ichinohe). **Crop Sci.**, 34:240-246. 1994.
- CONCIBIDO, V.C.; DIERS, B.W.; ARELLI, P.R. A decade of QTL mapping for cyst nematode resistance in soybean. **Crop Sci**. 44:1121-1131. 2004.
- CONCIBIDO. V.C.; DENNY. R.L.; BOUTIN. S.R.; HAUTEA. R.; ORF. J.H.;YOUNG. N.D. DNA marker analysis of loci underlying resistance to soybean cyst nematode (*Heterodera glycines* Ichinohe). **Crop Sci**. v.34.n.1. p.240-246. 1997.
- CREAGAN. P.; JARVIK. T.; BUSH. A.L.; SHOEMAKER. R.C.; LARK. K.G.; KAHLER. A.L.; VANTOAI. T.T.; LOHNES. D.G.; CHUNG. J.; SPECHT. J.E. An integrated genetic linkage map of the soybean. **Crop Sci**. V.39.p.1464-1490. 1999.
- CRUZ, C. D. **Programa Genes**: versão Windows; aplicativo computacional em genética e estatística. Editora UFV: Imprensa Universitária, Viçosa, 2001, 648p.

- CRUZ. C. D.; TORRES. R. A.; VENCOVSKY. R. An alternative approach to the stability analysis proposed by Silva and Barreto. **Revista Brasileira de Genética**. Ribeirão Preto. v. 12. p. 567-580. 1989.
- CRUZ. C.D. Programa **Genes: Aplicativo computacional em genética e estatística**. Editora – UFV. Viçosa – MG. 442 p. 1997.
- CRUZ. C.D.; REGAZZI. A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genéticos**. Viçosa - MG: UFV. 390p.1997.
- DI MAURO. A.O.. CURCIOLI. V.B.. NÓBREGA. J.C.M.. BANZATO. D.A.. SEDIYAMA. T. Correlação entre medidas paramétricas e não paramétricas de estabilidade de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.35. n.4. p.687-696. 2000.
- DIERS. B.W.; SHOEMAKER. R.C. Restriction fragment length polymorphism analysis of soybean fatty acid content. **J.Amer. Oil Chem. Soc.** v.69. n.12.p.1242-1244.1992.
- DOLDI ML, VOLLMANN J e LELLEY T (1997) Genetic diversity in soybean as determined by RAPD and microsatellite analysis. **Plant Breeding** 116:331-335.
- DUARTE. J.B.; VENCOVSKY. R. Interação genótipos x ambientes: uma introdução à análise AMMI. Ribeirão Preto: **Sociedade Brasileira de Genética**. 60p. 1999. (Série Monografias. 9).
- EBERHART. S.A.; RUSSELL.W.A. Stability parameters for comparing varieties. **Crop Science**. Madison. v.6. p.36-40. 1966.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina.PR). **Recomendações técnicas para a cultura da soja na região central do Brasil**. Londrina. 226 p. 2005. (Documentos. 132).
- FALCONER. D.S.; MACKAY. T.F.C. **Introduction to quantitative genetics**. 4. ed. Harlow: Longman. 464p. 1996.
- FEHR. W.R. **Principles of cultivar development**. New York: Macmillan. cap.18. p.247-258. 1987.
- FINLAY. K.W.; WILKINSON. G.N. The analysis of adaptation in a plant-breeding programme. **Australian Journal of Agricultural Research**. Australian. v.14. p.742-754. 1963.
- GIZLICE. Z.; CARTER. T.E.; BURTON. J.W. Genetic diversity in north american soybean: I. Multivariate analysis of founding stock and relation of coefficient of parentage. **Crop Science**. Madison. v. 33. n.3. p.614-620. 1993.

- HIROMOTO, D.M. **Seleção de genótipos de soja para performance agrônômica e resistência a *Heterodera glycines* Ichinohe e *Diaporthe phaseolorum f.sp. meridionalis* Morgan-Jones**. Piracicaba, 1996. 84p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- HIROMOTO, D.M.; VELLO, N.A. The genetic base of Brazilian soybean *Glycine max* (L.) Merrill) cultivars. **Revista Brasileira de Genética**, v.9, p.295-306, 1986.
- HUEHN. M. Nonparametric measures of phenotype stability. Part 1: **Theory**. **Euphytica**. v.47. n.3. p.189-194. 1990.
- HYMOWITZ. T.; SINGH. R.J.; KOLLIPARA. K.P. Biosystematics of the genus *Glycine*. 1996. **Soybean Genetics Newsletter**. v.24. p.119-120. 1997.
- JACOB. Y.. SATHER. S.. MARTIN. J.R.. OLLO. R. (1991). Analysis of Kruppel control elements reveals that localized expression results from the interaction of multiple sub elements. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 88(): 5912-5916. 1991.
- JEFFREYS. A. J.. N. J. ROYLE. V. WILSON and Z. WONG. Spontaneous mutation rates to new length alleles at tandem-repetitive hypervariable loci in human DNA. **Nature** 322: 278-281.1988.
- JEFFREYS. A. J.. V. Wilson. S. L. Thein. Individual-specific "fingerprints" of human DNA. **Nature**. 1985.
- KEIM. P.. B.W. DIERS. T.C. OLSON. and R.C. SHOEMAKER. RFLP mapping in soybean: association between marker loci and variation in quantitative traits. **Genetics** 126:735-742. 1990.
- KEIM. P.. R.C. SHOEMAKER. and R.G. PALMER. Restriction fragment length polymorphism diversity in soybean. **Theor. Appl. Genet.** 77:786-792. 1989.
- KIIHL. R. A. S.; ALMEIDA. L. A. A. O futuro do melhoramento genético como agregador de metodologias via semente. In: **ANAIS DO CONGRESSO DE TECNOLOGIAS E COMPETITIVIDADE DA SOJA NO MERCADO GLOBAL**. Cuiabá. Anais... Cuiabá. p.45-47. 2000.
- LANZA, M.A.; SCHUSTER, I.; GUIMARÃES, C.T.; Aplicação de marcadores moleculares no melhoramento genético. **Informe Agropecuário**, v.21, n.204, p. 97-108. 2000.
- LIN. C.S.; BINNS. M.R. A superiority measure of cultivar performance for cultivar x location data. **Canadian Journal of Plant Science**. v.68. n.3. p.193-198. 1988.
- LITT, M. & LUTY, J.A. A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **Am. J. Hum. Genet.**, v.44, p. 937-1401, 1989.

- LOPES. A.C.A.; VELLO. N.A.; PANDINI. F.; ROCHA. M.M.; TSUTSUMI. C.Y. Variabilidade e correlações entre caracteres em cruzamentos de soja. **Scientia Agricola**. v.59. n.2. p.341-342. 2002.
- MARIOTTI. J. A.; OYARLABAL. E. S.; OSA. J. M.; BULACIO. A.M.R.; ALMADA. G.H. Analisis de estabilidad y adaptabilidad de genótipos de canã de azucar e enteracciones dentro de una localidad experimental. **Revista Agronomica del Noroeste Argentino**. Tucuman. v.13. n.1/4. p .105-127. 1976.
- MARTIN. A. C. R.. CHEETHAM. J. C. & Rees. A. R. Molecular modeling of antibody combining sites. **Meth. Enzymol**. 203. 121-153. 1991.
- MAUGHAN. P.J.; MARROF. M.A.S.; BUSS. G.R.; HUESTIS. G.M. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) in soybean: species diversity. inheritance. and near-isogenic lines analysis. **Theoretical Applied Genetic**. Berlin. v.93. n.3. p.392-401. 1996.
- MAURO. A. O. **Adaptabilidade. estabilidade e ganho genético com o processo seletivo em soja (*Glycine max* (L.) Merrill) em Ponta Porã. Mato Grosso do Sul.** Viçosa. Universidade Federal de Viçosa. 192p. 1991. (Tese de Doutorado).
- McDONALD, M. B.; ELLIOT, L. J.; BURR, B.; CANTRELL, R.G. DNA extraction from dry seeds for RAPD analysis in varietal identification studies. **Seed Sci. Techol.**, v.22, p.171-176,1994.
- MELOTTO M. AFANADOR L. KELLY JD. Development of a SCAR marker linked to the I gene in common bean. **Genome** 39:1216–1219. 1996.
- MIRANDA, Z.F.S. **Base genética de cultivares de soja no Brasil**. 2005. 871p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- MIRANDA. G.V. **Diversidade genetica e desempenho de cultivares elites de soja como progenitors**. Vicosã: UFV. 1998. 117p. Dissertação (Doutorado Genetica e Melhoramento) – UFV. 1998.
- MIRANDA. Z.F.S.. ARIAS. C.A.A.. TOLEDO.J.F.F.. OLIVEIRA.M.F. Soybean seed oil content: genetic control under different photoperiods. **Genetics and molecular Biology**. v.21. n.3. p.387 – 394. 1998.
- MIRANDA. Z.F.S.; ARIAS. C.A.A.; PRETE. C.E.C.; KIIHL. R.A.S.; ALMEIDA. L.A.; TOLEDO. J.F.F.; DESTRO. D. Genetic characterization of ninety elite soybean cultivars using coefficient of parentage. **Pesq. Agropec. Bras.**. Brasília. v.42. n.3. p.363-369. 2007.

- MUDGE. J., CREGAN. P.B., KENWORTHY. J.P., KENWORTHY. W.J., ORF. J.H. & YOUNG. N.D. Two microsatellite markers that flank the major soybean cyst nematode resistance locus. **Crop Science** 37:1611-1615. 1997.
- MULLIS. K., FALOONA. F. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. **Methods in Enzymology**. v.155. p.335. 1987.
- MURAKAMI. D. M. **Novas metodologias de análise de interação genótipos x ambientes: análise combinada de estratificação, adaptabilidade e estabilidade e análise de representatividade ambiental**. Viçosa. UFV. 154p. 2001. Dissertação (Doutorado em Genética e Melhoramento) – UFV. 2001.
- MURAKAMI. D. M.; CARDOSO. A.A.; CRUZ. C.D.; BIZAO. N. Considerações sobre duas metodologias de análise de estabilidade e adaptabilidade. **Ciência Rural**. Santa Maria. v.34. n. 1. p. 71-78. 2004.
- NAKAMURA. Y. *et al.* Variable number of tandem repeat (VNTR) markers for human gene mapping. **Science** 235. 1616-1622. 1987.
- NARVEL JM, FEHR WR, CHU WS, GRANT D e SHOEMAKER RC (2000) Simple sequence repeat diversity among soybeanplant introductions and elite genotypes. **Crop Sci** 40:1452-1458.
- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. **Genetic vulnerability of major crops**. Washington D.C.. p.307. 1972.
- NELSON, R.L.,AMDOR P.J., ORF, J.H., CAVINS, J.F., 1988. Evaluation of the USDA soybean germplasm collection: Maturity groups 000 to IV (PI427136 to PI445845). **USDA Tech. Bull.** 1726.
- NELSON, R.L.,AMDOR P.J., ORF, J.H., LAMBERT J.W., CAVINS,J.F., KLEIMAN,R., LAVIOLETTE, F.A. e ATHOW, K.A. 1987. Evaluation of the USDA soybean germplasm collection: Maturity groups 000 to IV (PI273483 to PI427107). **USDA Tech. Bull**, 1718.
- PALUDZYSZYN FILHO, E.; KIIHL, R.A. de S.; ALMEIDA, L.A. Desenvolvimento de cultivares de soja na região Norte e Nordeste do Brasil. In: ARANTES, N.E.; SOUZA, P.I. de M. de (Ed.). **Cultura da soja nos cerrados**. Piracicaba: Potafos. p.255-266. 1993.
- PARAN. I.; MICHELMORE. R.W. Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. **Theoretical Applied Genetic**. v.85. p.985-993. 1993.

- PELÚZIO, J.M.; SEDIYAMA, C.S. Adaptabilidade e estabilidade de produção de grãos de dez cultivares de soja, no estado de Tocantins. **Revista Agricultura Tropical**, Cuiabá, v.4, n.1, p.39-45, 2000.
- PLAISTED. R. L.; PETERSON. L. C. A technique for evaluating the ability of selections to yield consistently in different locations or seasons. **Amer. Potato J.** v. 36. p. 381-385. 1959.
- PRADO. E.E.; HIROMOTO. D. M.; GODINHO. V.P.C.; UTUMI. M.M.; RAMALHO. A.R. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de soja em cinco épocas de plantio no cerrado de Rondônia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília. v. 36. n.4. p.625 – 635. 2001.
- PRIOLLI, R. H. G.; MENDES, C. T.; ARANTES, N. E.; CONTEL, E. P. B. Characterization of Brazilian soybean cultivars using microsatellite markers. **Genetics and Molecular Biology**. v. 25(2), p. 185-193, 2002.
- RAMALHO. M.A.P.; SANTOS. J.B.; ZIMMERMANN. M.J. de O. **Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro**. Goiânia. GO: UFG. 271p. 1993.
- ROCHA. M. M. **Seleção de linhagens experimentais de soja para adaptabilidade e estabilidade fenotípica**. 2002. Piracicaba. 173f. Dissertação (Doutorado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo.
- ROCHA. M.M.. VELLO. N.A. Interação genótipos e locais para o rendimento de grãos de linhagens de soja com diferentes ciclos de maturação. **Bragantia**. v. 58. n.1. p. 69-81. 1999.
- ROMAGOSA. I; FOX. P. N. Genotype x environment interaction and adaptation. In: HAYWARD. M.D.; BOSEMARK. N.O.; ROMAGOSA. I. **Plant breeding: principles and prospects**. London: Chapman & Hall. chap. 20. p. 375-390. 1993.
- RONGWEN, J.; AKKAYA, M. S.; BHAGWAT, A. A.; LAVI, U. CREGAN; P. B. The use of microsatellite DNA markers for soybean genotype identification. **Theoretical and Applied Genetics**. v. 20, p. 43-48,1995.
- SAIKI. R.K.; SCHARF. S.; FALOONA. F.; MULLIS. K.B.; HORN. G.T.; ERLICH. H.A.; ARNHEIM. N. Enzymatic amplification of b-globulin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. **Science**. v. 230. p. 1350-1354. 1985.
- SAMBROOK, J; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. Molecular cloning a laboratory manual. 2. Ed. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Prees, v.3, 1989.

- SCHUSTER. I. ; ABDELNOOR. R. V. ; MARIN. S. R. R. ; CARVALHO. V. P. ; KIIHL. R. A. S. ; SILVA. João Flávio V ; SEDIYAMA. Carlos S ; BARROS. Everaldo Gonçalves de ; MOREIRA. Maurilio Alves . Identification of a new major QTL associated with resistance to soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*). **Theoretical And Applied Genetics**. Alemanha. v. 102. p. 91-96. 2001.
- SEDIYAMA. C.S.; OLIVEIRA. L.O.; CRUZ. C.D. Análise de estabilidade fenotípica de cultivares de soja por meio de regressão linear simple e da regressão linear segmentada. **Revista Ceres**. v. 37. p. 513-518. 1990.
- SEDIYAMA. T.; PEREIRA M. G.; SEDIYAMA. C. S.; GOMES. J. L. L. **Cultura da Soja**. Universidade Federal de Viçosa. parte I. 1985.
- SEDIYAMA. T.; PEREIRA. M. G.; SEDIYAMA. C. S. GOMES. J. L. L. **Cultura da Soja – I Parte**. 3ª Reimpressão. Viçosa: UFV. 1996. 96p.
- SILVA. J. G. C.; BARRETO. J. N. An application of segmented linear regression to the study of genotype x environment interaction. **Biometrics**. Washington. v. 41. n. 4. p. 1093. 1986.
- SILVA. J.F.V.; L.C.B.C. FERRAZ; C.A.A. ARIAS & R.J.E. ABDELNOOR. Identificação de marcadores moleculares de microssatélite associados à resistência de genótipos de soja a *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**. 25(1):79-83. 2001.
- SILVA. J.G.C.; BARRETO. J.N. Aplicação da regressão linear segmentada em estudos da interação genótipo x ambiente. In: **SIMPÓSIO DE EXPERIMENTAÇÃO AGRÍCOLA**. 1. 1985. Piracicaba. Anais... Piracicaba: ESALQ. p. 49-50. 1985.
- SMITH. S.; LUK. S; SOBRAL. B.; MUHAWISH. S; PELEMAN. J.; ZABEAU. M. Associations among inbred lines of maize using RFLP and DNA amplification technologies (AFLP and AP-PCR). and correlation with pedigree. F1 yield and heterosis. **Maize Genetic Cooperation Newsletter**. Urbana-Champaign. v.68. p.45. 1994.
- SONG, Q. J.; MAREK, L. F.; SCHOEMAKER, R. C.; LARK, K. G.; CONCIBIDO, V. C.; DELANNAY, X.; SPECHT, J. E.; CREGAN, P. B. A new Integrated Genetic Linkage Map of the Soybean **Theoretical and Applied Genetics**. v. 109, p. 122-128, 2004.
- SPECHT. J. E.. WILLIAMS. J.H. Contribution of genetic technology to soybean productivity retrospect and prospect. In: FEHR. W.R. (Ed) Genetic contributions to the yield gains in five major crops plants. Madison: **Crop Science Society of America**. p.49-74. 1983. (Special Publication N°. 7).
- TAI. G. C. C. Genotypic stability analysis and its application to potato regional trials. **Crop Science**. v.11. n.2. p. 184-190. 1971.

- TAMULONIS. J.P.; B.M. LUZZI; R.S. HUSSEY; W.A. PARROT & H.R. BOERMA. DNA markers associated with resistance to javanese root-knot nematode in soybean. **Crop Science**. 37:783-788. 1997.
- UDE, G.N.; KENWORTHY, W.J.; COSTA, J.M.; CREAGAN, P.B., e ALVERNAZ J. Genetic diversity of soybean cultivars from China, Japan, North America and North American ancestral lines determined by amplified fragment length polymorphism. **Crop sci.**, 43:1858-1867. 2003.
- VELLO, N.A.; HIROMOTO, D.M.; AZEVEDO FILHO, A.J.B.V. Coefficient of parentage and breeding of Brazilian soybean germplasm. **Revista Brasileira de Genética**, v.11, p.679-697, 1988.
- VELLO. N.A.; FEHR. W.R.; BAHRENFUS. J.A. Genetic variability and agronomic performance of soybean populations developed from plant introductions. **Crop Science**. Madison. v.24. n. 4. p. 511-514. 1984.
- VERMA. M. M.; CHAHAL. G. S.; MURTY. B. R. Limitations of conditional regression analysis: a proposed modification. **Theor. Appl. Genet.** v.53. n.2. p. 89-91. 1978.
- VERNETTI. F.J. Origem da especie. introducao e disseminacao no Brasil. In:FUNDAÇÃO CARGILL. **Soja: planta, clima, pragas, moléstias e invasoras**. Campinas. p. 3-123. 1983.
- VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER,M.; REIJANS, M.; LEE, T.; HORNES, M.; FRIJTERS,A.; POT, J.; PELEMAN, J; KUIPER, M. e ZABEAU, M. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic. Acids Res.**, v.23, n.5, p. 4407-4414, 1995.
- WELSH. J.. M. MACLELLAND. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucl.Acid.Res**. 18(24). 1990.
- WILLIAMS. J.; KUBELIK. A.; LIVAK. K.; RAFALSKI. A.; TINGEY. S. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**.18:6531-6535. 1990.
- WRICKE. G. Uber eine methode zur erfassung der okologischen streubreite i feldversuchen. **Z. Pflanzenzuchtq**. v.47. p. 92-96. 1965.
- XU. B.; ZHEN. H.; LU. Q.; ZHAO. S.; HU. Z. Three evidence of original area of soybean. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE. 4.. Buenos Aires. 1988. Proceedings. Buenos Aires: **Association Argentina de la Soja**. p.124 – 128. 1989.
- YU, K.; PAULS K.P. Identification of a RAPD marker associated with somatic embryogenesis in alfalfa. **Plant Mol Biol** 22: 269–277.1993.