UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu

FCA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
UNESP | BOTUCATU

LARISSA CHAMMA

FENOTIPAGEM DE LINHAGENS DE SOJA EM RELAÇÃO À QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES

Botucatu

2019

LARISSA CHAMMA

FENOTIPAGEM DE LINHAGENS DE SOJA EM RELAÇÃO À QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Agricultura).

Orientador: Prof. Dr. Edvaldo Aparecido Amaral da Silva

Botucatu

2019

C448f

Chamma, Larissa

Fenotipagem de linhagens de soja em relação à qualidade fisiológica de sementes / Larissa Chamma. -- Botucatu, 2019

86 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu

Orientador: Edvaldo Aparecido Amaral da Silva

1. Soja - Sementes. 2. Sementes - Fisiologia. 3. Sementes - Longevidade. 4. Sementes - Melhoramento genético. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: FENOTIPAGEM DE LINHAGENS DE SOJA EM RELAÇÃO À QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES

AUTORA: LARISSA CHAMMA
ORIENTADOR: EDVALDO APARECIDO AMARAL DA SILVA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em AGRONOMIA (AGRICULTURA), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. EDVALDO APARECIDO AMARAL DA SILVA
Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP

Voluntário Livre-Docente JOÃO NAKAGAWA
Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciencias Agronomicas de Botucatu

Prof. Dr. JOSÉ BALDIN PINHEIRO
Genética / ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA

Botucatu, 25 de julho de 2019

Aos meus amados pais e irmão,

Denise, Reinoldo e Marcelo,

Dedico

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer inicialmente aos meus pais e meu irmão, Reinoldo, Denise e Marcelo. Não existe palavra nesse mundo que seja capaz de agradecer o suficiente por tudo que fizeram por mim até hoje, pelo amor incondicional, pelo apoio profissional, por ser a base que me possibilitou alcançar todos os meus sonhos até hoje. Vocês são meus maiores exemplos de amor, perseverança e honestidade.

A todos os meus familiares que me deram forças para seguir meu caminho, estando sempre presentes em todos os momentos de dificuldade me aconselhando. Em especial as minhas tias Ana Clara e Helena, a minha prima Mariana, e aos meus avôs: Ayrton e Madalena, por sempre me desejaram força nos momentos difíceis.

A todos os meus colegas do laboratório de sementes da Unesp. A Valéria Giandoni por não medir esforços durante a execução deste trabalho, sacrificando inclusive finais de semana e feriados, isso é a maior prova de amor a profissão que alguém pode dar. Aos meus amigos que me apoiaram na parte acadêmica e, principalmente na vida pessoal: Maurício Hideki, Samara Perissato Natalia Gavilan, Carolina Cardoso, Daiani, Denise, Tiago Alexandre, Yago, Dennis, Ana, Amanda, Rute e Deoclecio vocês foram maravilhosos em todos os momentos. Aos estagiários do laboratório, com carinho especial: Gabriel e João.

Ao Girlanio e ao Thiago Batista, pelo companheirismo e por todo apoio durante a execução e, principalmente na fase final do experimento. Acho que a melhor forma de agradecer tudo o que fizeram por mim, tanto profissionalmente como emocionalmente é pode fazer o mesmo por alguém um dia.

Aos meus colegas do Departamento e de amizade, Carlos, Sebastiao, Gustavo, Barbara, Ana Stella, Bruna Catoia, Germino, Ruan e Jackson. Ao Iuri Dario, por mesmo longe, estar sempre presente na minha vida, me aconselhando.

Ao Otavio Zambianco, pelo companheirismo, por sempre acreditar em mim, por me apoiar em todas as decisões e pelo otimismo nos momentos difíceis.

As meninas que dividiram o lar comigo durante esses dois anos, Thais e Louise, por todo apoio, amizade e momentos de descontração

Aos alunos e funcionários do laboratório de Melhoramento Genético da ESALQ, Mayara, Marcio e Sr. Amaral. Em especial ao Emanoel, que desde o início do experimento sempre me deu muito apoio e compartilhou conhecimentos.

Ao Prof. José Pinheiro Baldin, pela oportunidade de executar esta pesquisa em conjunto com seu laboratório e principalmente pela confiança.

Ao Prof. Edvaldo A. Amaral da Silva pela orientação, valorosos ensinamentos, conversas e paciência. Principalmente por acreditar em mim e sempre me apoiar.

Ao Profº. João Nakagawa, pelos ensinamentos, aconselhamentos, por ser exemplo de paixão a profissão e dedicação. Que honra ter convivido dois anos com o senhor.

A todos os professores, técnicos e funcionários do Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal da Faculdade de Ciências Agronômicas – UNESP/Botucatu. Em especial a Profª. Marcia Sartori. A Eliane, Iara e Amanda pelos momentos de descontração.

Ao CNPQ – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela bolsa de estudos concedida.

Para finalizar agradeço imensamente a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

“Pouco conhecimento faz com que as pessoas se sintam orgulhosas”.
Muito conhecimento, que se sintam humildes.

É assim que as espigas sem grãos erguem desdenhosamente a cabeça para o céu,
enquanto que as cheias abaixam para a terra, sua mãe....”

Leonardo da Vinci

RESUMO

Programas de melhoramento têm permitido a expansão e adaptação da soja frente aos problemas bióticos e abióticos. Contudo, pouca ênfase é dada à seleção de características associadas à qualidade fisiológica e desempenho de sementes, pois estas determinam uma germinação rápida e uniforme, que garantem o estabelecimento de plântulas normais em campo, refletindo alta produtividade, além de conferir a viabilidade das sementes para o armazenamento (longevidade). Deste modo, objetivou-se avaliar à qualidade fisiológica de sementes de soja a partir de linhagens endogâmicas recombinantes (RILs), a fim de identificar materiais contrastantes quanto a qualidade fisiológica de sementes. Foram estudados os genótipos parentais IAC-100 e CD-215, respectivamente, suscetível ou não ao ataque de percevejo, e 166 RILs obtidas através do método “Single Seed Descent” (SSD). Inicialmente, os parentais e as RILs foram avaliados em relação a germinação, vigor e longevidade, para verificar se havia contrastes entre os materiais com relação a qualidade fisiológica de sementes, permitindo a seleção de materiais de alta qualidade fisiológica. Com bases nos resultados obtidos foi possível observar contrastes entre os materiais em relação a germinação, vigor e longevidade, permitindo a seleção de materiais com características superiores e inferiores. As linhagens selecionadas como superiores foram as 3, 24, 44, 76, 113, 141, 143, 153, 155 e 164, e as inferiores 12, 18, 28, 47, 97, 98, 105, 107, 109, 112 e 163.

Palavras-chave: *Glycine max* (L.). Longevidade. Seleção de linhagens.

ABSTRACT

Breeding programs have allowed the expansion and adaptation of soybeans to biotic and abiotic stress. However, few emphases is given to the selection of characteristics associated with the physiological quality and seed performance, since they determine a fast and uniform germination that guarantee the establishment of normal seedlings in the field, reflecting high productivity. Moreover, they confer the viability of the seeds for storage (longevity). The aim of this study was to evaluate the physiological quality of soybean seeds from recombinant inbred lines (RILs) in order to identify contrast materials on the physiological quality of seeds. The parental genotypes IAC-100 and CD-215, and 166 RILs obtained through the "Single Seed Descent" (SSD) method were studied. The genitors and RILs were evaluated for germination, vigor and longevity, to verify if there were contrasts between the materials in relation to the physiological quality of seeds, allowing the selection of high physiological quality materials. Based on the results obtained, it was possible to observe contrasts between the materials in relation to germination, vigor and longevity, allowing the selection of materials with superior and inferior characteristics. The lines selected as superior were 3, 24, 44, 76, 113, 141, 143, 153, 155 and 164, and the lines selected as inferior were 12, 18, 28, 47, 97, 98, 105, 107, 109, 112 and 163.

Keywords: *Glycine max* (L.). Longevity. Selection of lines.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática do desenvolvimento de sementes de soja..28
Figura 2- Estádios fenológicos e fases de desenvolvimento da soja 31
Figura 3 - Dados diários de temperaturas máximas, médias e mínimas e precipitação pluvial da Estação Experimental de Anhumas durante o ciclo da cultura da soja.....37
Figura 4 - Média da densidade populacional por amostragem na área experimental 40
Figura 5 - Comprimento de p arte área e raiz (A), Teor de óleo (B), T50 (C) e P50 (D) para as sementes dos genótipos parentais IAC-100 e CD-215.....46
Figura 6 - Longevidade de sementes dos genótipos parentais IAC-100 e CD-215...46
Figura 7 - Análise componentes principais das médias das avaliações de componentes de qualidade fisiológica de sementes (PC: primeira contagem, plântulas normais, protrusão, COMP.PA = comprimento de parte área, COMP.RA = comprimento de raiz, MMS.PA = massa de matéria seca de parte área, MMS.RAIZ = massa de matéria seca de raiz, teor de óleo, T50) para os 168 tratamentos. A: (PC1XPC2). B: (PC1XPC3).....48
Figura 8 - Longevidade de sementes para as linhagens selecionadas como qualidade fisio lógica superior (A) e inferior (B).....51
Figura 9 - P50 das linhagens selecionadas como qualidade fisiológica superior e inferior 52
Figura 10 - Tempo para a ocorrência de 50% de germinação das linhagens selecionadas como qualidade fisiológica superior e inferior.....52
Figura 11 - Dendrograma resultante da análise de 166 linhas e 2 genótipos de soja com base em dez variáveis fisiológicas (plântulas normais, protrusão, primeira contagem, comprimento de parte aérea, comprimento de raiz, massa de matéria seca de parte aérea, massa de matéria seca de raiz, T50, P50, teor de óleo) utilizando a distância euclidiana e o método de agrupamento UPGMA. 53
Figura 12 - Correlação de Pearson para as variáveis PN (plântulas normais), protrusão, PC (primeira contagem), T50, P50, COMP.PA (comprimento

de parte aérea), COMP.RAIZ (comprimento de raiz), MMS.PA (massa de matéria seca de parte aérea, MMS.RAIZ (massa de matéria seca de raiz) e teor de óleo. 57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização dos estádios fenológicos da soja.....30
Tabela 2 - Identificação dos 168 tratamentos.....39
Tabela 3 - Significância das análises de variância das características de qualidade fisiológica de sementes dos parentais IAC-100 e CD-215 45
Tabela 4 - Principais componentes, eigen valor, proporção de variância explicada e proporção acumulativa 48
Tabela 5 - Eigen vectores da primeira contagem, plântulas normais, protrusão, COMP.PA (comprimento de parte área), COMP.RA (comprimento de raiz), MMS.PA (massa de matéria seca de parte área), MMS.RAIZ (massa de matéria seca de raiz), teor de óleo, P50, T50 das três componentes principais (PC1, PC2 e PC3).....49

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 21
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 23
2.1 Aspectos gerais da cultura da soja 23
2.2 Melhoramento genético 24
2.3 Formação e desenvolvimento das sementes 26
3.2.1 Caracterização fenológica da soja e aquisição de qualidade ..... fisiológica 29
2.4 Influencia do ambiente e do genótipo na aquisição da qualidade fisiológica de sementes 32
2.4.1 Influência do genótipo 33
2.4.2 Influência dos fatores abióticos 33
2.4.3 Influência dos estresses bióticos 34
3 MATERIAL E MÉTODOS 37
3.1 Determinação do teor de água 41
3.2 Germinação 41
3.3 Avaliação do Vigor 42
3.3.1 Tempo médio para ocorrência de 50% de germinação (T50) 42
3.3.2 Primeira contagem da germinação 42
3.3.3 Determinação do Comprimento de plântula e Massa Seca de plântulas 42
3.4 Estudo da longevidade 43
3.5 Teor de óleo 43
3.7 Análise dos resultados 44
4 RESULTADOS 45
5 DISCUSSÃO 58
6 CONCLUSÕES 62
REFERÊNCIAS 63
APÊNDICES 75

1 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merill], principal commodity agrícola brasileira, é a cultura que mais se expandiu nas últimas três décadas, representando 57% da área plantada em grãos no país (CONAB, 2018). Esta espécie apresenta grande valor socioeconômico graças à importância de seus produtos, tanto para o mercado interno quanto externo. No mundo, o Brasil é um dos poucos países com possibilidade de incremento nas áreas de plantio de soja, devido à maior disponibilidade de regiões aptas ao cultivo da soja, principalmente com a expansão do plantio nas Regiões Centro-Oeste e Norte, e atualmente para MATOPIBA (Maranhão, Tocantins, Piauí e Bahia) (ARAÚJO et al., 2019).

Os fatores que possibilitaram o avanço da cultura da soja para regiões de baixa latitude foram os programas de melhoramento genético, possibilitando o surgimento de cultivares mais adaptadas às diferentes latitudes (KIIHL; GARCIA, 1989). Os programas de melhoramento genético da soja objetivam o desenvolvimento de cultivares com alta produtividade de grãos, ampla adaptabilidade, alta estabilidade, tolerância a pragas e doenças e com características superiores às daquelas já disponíveis no mercado (BORÉM; MIRANDA; FRITSCH-NETO, 2017). No entanto, pouca ênfase tem sido dada a seleção de caracteres relacionados a qualidade fisiológica de sementes (VASCONCELOS et al., 2012)

A qualidade fisiológica das sementes é influenciada pelo genótipo, justificando a seleção desta característica para os programas de melhoramento (SILVA, 2015). Dentro de uma mesma espécie, diferentes variedades podem apresentar variações em relação as características referentes à qualidade fisiológica das sementes (MERTZ, 2009; LI et al., 2017) o que pode justificar a seleção de materiais de alta qualidade fisiológica de sementes.

A qualidade fisiológica é adquirida durante a fase de desenvolvimento da semente e compreende a aquisição de germinação, vigor e capacidade de armazenamento (longevidade) (LIMA et al., 2017).

Segundo Bewley et al. (2013), o processo da germinação inicia-se com a absorção de água pela semente (embebição) e termina com o surgimento do eixo embrionário, geralmente a radícula através das estruturas que a rodeiam. O vigor das sementes é definido pela “International Seed Testing Association” (ISTA, 2014) como “o conjunto de propriedades que determinam a atividade e o desempenho de lotes de

sementes com germinação aceitável, sob ampla variação de condições ambientais". A longevidade de sementes refere-se à capacidade que as sementes possuem de manterem-se viáveis durante o armazenamento (SANO et al., 2015).

Deste modo, objetivou-se com este trabalho avaliar fenotipicamente a qualidade fisiológica de sementes de soja em linhagens endogâmicas recombinantes provenientes do cruzamento de genótipo resistente ou não a percevejos e de alta produtividade, permitindo a obtenção de materiais contrastantes quanto a qualidade fisiológica das sementes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos gerais da cultura da soja

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) (2n=40) é uma planta herbácea, autógama pertencente à família Fabaceae (NCBI, 2017). Além disso, é uma das culturas de maior importância econômica do mundo, e sua produção é comercializada em larga escala como grão, farelo e óleo.

Apesar de sua utilização na indústria ser muito diversificada, possui maior destaque como produto alimentício, tanto humano como animal, devido ao seu alto teor proteico (APROSOJA 2016b), sendo que a maioria dos cultivares apresentam aproximadamente 40% de proteína, 20% de óleo (NATARAJAN et al., 2013), e 30% de carboidrato (MORAES et al., 2006) sua composição química é consideravelmente influenciada pela genética das cultivares (SOUZA et al., 2009), pelas condições climáticas (ALBRECHT et al., 2008; BARBOSA et al., 2011) e características químicas do solo (MORAES et al., 2008).

A produção mundial na safra de 2017-2018 foi recorde com 119.281,7 milhões de toneladas, 2,6% superior a safra anterior, com área plantada de 35,1 milhões de hectares. A produtividade por sua vez atingiu 3.394 kg/ha. Para a safra de 2018/2019, as estimativas são de 35,802 milhões de hectares, com 114.313,9 milhões de toneladas, e a produtividade de 3.193,59 kg/ha, pouco inferior a safra passada (CONAB, 2019). Perspectivas futuras assumem que nos próximos anos as culturas oleaginosas, principalmente a soja, continuarão dominando o uso da terra no Brasil assumindo quase metade da área colhida em 2024 (OECD-FAO, 2015).

O Brasil é autossuficiente na produção de soja para o mercado interno, sendo que no ano de 2018, exportou quase 84 milhões de toneladas (SECEX, 2018). A cultura possui balança comercial favorável, representando cerca de 13,17% das exportações totais brasileiras, das quais a maior parte é adquirida pela China (75% das exportações), seguida pela União Europeia (11%) (SECEX, 2019).

O aumento da produção e da capacidade competitiva da soja brasileira está intimamente ligado aos avanços de conhecimentos científicos, à disponibilização de tecnologias ao setor produtivo e à adoção de tecnologias pelos agricultores (EMBRAPA, 2013). Neste sentido, os programas de melhoramento genético, têm

importância fundamental no desenvolvimento da cultura pelo desenvolvimento de cultivares adaptadas a diversidade edafoclimática brasileira. Deste modo, a soja constitui um forte objeto de pesquisa, visando o aumento da produtividade de grãos e expansão de seu cultivo (BORNHOFEN et al., 2015)

2.2 Melhoramento genético

Os programas de melhoramento genético têm como metas básicas a seleção de genótipos superiores aos cultivares comerciais, sendo que as características expressas pela planta estão relacionadas ao controle genético, ambiental e a interação entres estes (MOHAMMAD; AMRI, 2009). A identificação de genótipos com as características desejadas é realizada através da avaliação de dados fenotípicos (fenotipagem) e do valor de cultivo e uso, com a finalidade de obter uma linhagem que expresse todo seu potencial genético, minimizando assim o efeito do ambiente (SOUSA et al., 2010).

Para a cultura da soja, os programas de melhoramento têm buscado, principalmente, a seleção de genótipos com características que possibilitem maiores rendimentos, selecionando linhagens mais produtivas, resistentes a pragas e doenças e adaptadas às diferentes condições de clima, solo, fotoperíodo, permitindo a incorporação de novas áreas, e aumentando a rentabilidade do produtor (BUENO; MENDES; CARVALHO, 2006; KRZYZANOWSKI, 1998; VASCONCELOS et al., 2012). Contudo, em relação a seleção de caracteres associados a qualidade fisiológica e desempenho de sementes, pouca ênfase tem sido dada. Este fato pode ser comprovado pela elevada variabilidade genética disponível e ganho por seleção obtidos quando foi realizado melhoramento visando germinação e vigor das sementes (MAIA et al., 2011; MARTINS; SILVA; MACHADO, 2014; OLIVEIRA et al., 2014; VASCONCELOS et al., 2012).

A constituição genética da planta influencia a qualidade fisiológica das sementes de soja (COSTA et al., 2001), sendo que o estudo da variabilidade genética das características quantitativas de interesse, associado à qualidade das sementes, pode proporcionar eficiência dos programas de melhoramento, visto que as sementes são o meio de transferência de tecnologia (SILVA, 2015).

Segundo VASCONCELOS et al. (2012), várias fontes de qualidade de semente foram identificadas, o que revela a possibilidade de ganho com a seleção destas características. Alguns trabalhos foram desenvolvidos buscando selecionar caracteres para melhoria da qualidade de sementes de soja como a resistência a dano mecânico e a doenças, a alto desempenho germinativo em ambientes tropicais de alta temperatura e umidade relativa, a tamanho das sementes e a permeabilidade da parede da vagem e propriedades do tegumento (CARBONELL; KRZYZANOWSKI, 1995; DELLAGOSTIN et al., 2011; GASPAR-OLIVEIRA, 2014; KRZYZANOWSKI, 1998; KRZYZANOWSKI et al., 2008).

Estudos avaliando a germinação e emergência de plântulas de soja em leito de areia (VASCONCELOS et al.., 2012), e na cultura do feijoeiro avaliando germinação, índice de velocidade de germinação e a massa de matéria seca de sementes (MAIA et al., 2011) demonstraram que estas características podem estar relacionadas com a herdabilidade e variabilidade, justificando assim a aplicação de métodos de melhoramento simples para a melhoria da qualidade de sementes, por seleção de progênies com sementes mais longevas e maior emergência de plântulas em campo, o que torna a seleção de caracteres relacionados a qualidade fisiológica de semente importante para os programas de melhoramento genético (VASCONCELOS et al.., 2012).

Segundo França Neto e Krzyzanowski (2003), algumas metodologias estão sendo utilizadas pelos programas de melhoramento genético para a avaliação de qualidade das sementes desta espécie, como por exemplo, o método modificado do envelhecimento acelerado, a determinação do conteúdo de lignina no tegumento e o método do retardamento da colheita. O tetrazólio tem sido utilizado para identificação de danos por percevejo, umidade e mecânicos nas sementes, além de avaliar a viabilidade e o vigor dessas, auxiliando no diagnóstico das possíveis causas da redução na qualidade (COSTA et al., 2007).

Os testes de germinação e vigor podem ser usados pelas empresas e instituições de pesquisa em programas de melhoramento genético, para a comparação e seleção de linhagens, variedades e híbridos com sementes de qualidade superior, para várias espécies (MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009). Além disso, Martins et al. (2016), estudando metodologias para seleção de linhagens observaram que testes de envelhecimento acelerado, primeira contagem, germinação

e classificação do vigor de plântulas podem ser utilizados para a seleção de linhagens de soja com sementes de maior vigor e emergência de plântulas em campo.

No entanto, sabe-se que a qualidade fisiológica de sementes envolve não só a germinação, mas o vigor e longevidade de sementes, pois são características importantes a serem consideradas pelos programas de melhoramento a fim de selecionar materiais que apresentem maior período de armazenamento, visando a preservação nos bancos de germoplasma e garantindo a segurança alimentar já que a soja apresenta menor período de armazenamento comparado com sementes de outras culturas (WALTERS; WHEELER; GROTENHUIS, 2005a). Contudo não existem referencias de estudos sobre longevidade de sementes para a seleção de materiais superiores quanto a esta característica.

Os processos fisiológicos da semente são programados e codificados geneticamente durante o processo de sua formação (MARCOS-FILHO, 2015), ocorrendo diferenças do metabolismo e de desempenho da semente entre espécies e cultivares, embora haja influência decisiva do ambiente e das condições de cultivo (MAIA et al., 2011; LIN et al., 2014).

2.3 Formação e desenvolvimento das sementes

O desenvolvimento de sementes é um processo controlado geneticamente e influenciado pelo ambiente, que abrange uma sequência ordenada de alterações que se iniciam a partir da fecundação e finalizam com a queda no conteúdo de água, caracterizando o final do desenvolvimento (BEWLEY et al., 2013).

As três fases que constituem o processo de formação de desenvolvimento das sementes são denominadas: embriogênese, enchimento de grãos (maturação) e maturação tardia (Figura 1). Esses processos envolvem a interação de processos de desenvolvimento e vias metabólicas que interagem com o ambiente (BEWLEY et al., 2013)

A embriogênese é a fase que inicia com a fertilização, marcado como uma fase “lag” e representada pela histodiferenciação e expansão celular, capaz de promover à diferenciação do embrião, endosperma e tegumentos, partes essenciais que constituem a semente (BEWLEY et al., 2013). Este período de divisão é

caracterizado por rápido aumento no teor de água e pouco aumento no peso seco (BEWLEY; BLACK, 1994).

A segunda fase conhecida como maturação, é a fase em que ocorre a síntese da maioria das reservas de armazenamento para germinação e o aumento das proteínas associadas a longevidade (HAJDUCH et al., 2005). O acúmulo de carboidratos precede o de lipídios e proteínas, pois os carboidratos são precursores e/ou participam indiretamente da síntese desses compostos nas sementes (MARCOS-FILHO, 2015). Para a cultura da soja, essa fase varia de quatro a cinco semanas (HAJDUCH et al., 2005), e os eventos metabólicos que ocorrem nela irão determinar a composição química da semente, e a alteração dessas vias pode impactar nos traços de qualidade fisiológica da semente (THELEN; OHLROGGE, 2002).Os compostos armazenados e o conteúdo em sementes de soja podem variar consideravelmente entre os genótipos, o que dependerá da nutrição da planta-mãe, intensidade das condições ambientais, disponibilidade de água, temperatura durante o desenvolvimento e incidência de pragas e doenças (ROSSI, 2016).

A maturidade fisiológica é caracterizada como o ponto em que a semente não recebe mais nutrientes da planta-mãe, cessando a conexão entre a planta e a semente (DEMIR; ELLIS, 1992). No entanto, para a cultura da soja, continua a ocorrer acréscimo na qualidade fisiológica das sementes, após a maturidade fisiológica (FINCH-SAVAGE; BASSEL, 2015), tornando-se evidente a importância da fase de maturação tardia para o aumento da qualidade fisiológica (VIDIGAL et al., 2016).

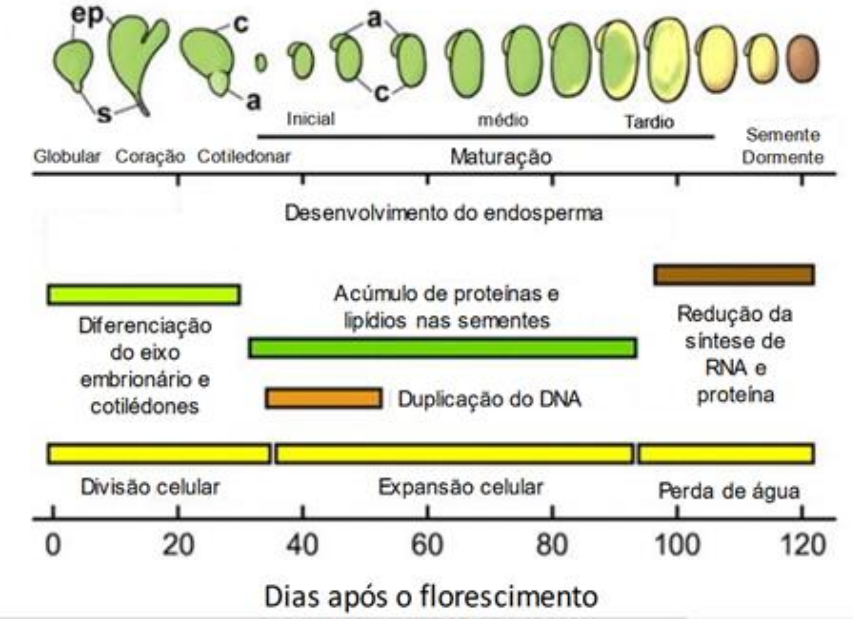
A maturação tardia, terceira fase, é representada pela perda de água que leva ao estado de quiescência após o enchimento das sementes, na qual o acúmulo de reservas cessa. Nesta fase as sementes apresentam baixa atividade metabólica, preservando sua viabilidade. Além disso, neste período ocorre também diminuição dos inibidores de germinação, alteração das membranas e degradação de proteínas que aumentam o vigor (FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006).

No entanto, não há um consenso de quando a fase de maturação tardia começa, visto que maioria das espécies não necessariamente procede diretamente para a fase final de secagem após a fase de enchimento (SANHEWE; ELLIS, 1996). Sementes de Arabidopsis tem a fase de maturação tardia considerada uma das mais curtas já caracterizada, fornecendo a explicação da razão desta fase ainda não ter recebido considerável estudos no nível molecular (LEPRINCE et al., 2017).

Em nível molecular, a maturação tardia tem influência crucial para a qualidade de sementes, visto que um grande número de mecanismos foi descoberto estando relacionado a sobrevivência no estado seco. Esse mecanismo incluem acúmulo e síntese de moléculas protetoras, tais como açúcares não redutores (HOEKSTRA; YEE; GLADDERS, 2001), proteínas abundantes ao final da embriogênese (LEA) (HUNDERTMARK et al., 2011; CHATELAIN et al., 2012), proteínas de choque térmico (HSPs) (PRIETRO-DAPENA et al., 2006), várias outras proteínas de estresse (SUGLIANI et al., 2009) e um conjunto de defesas antioxidantes contra o estresse oxidativo, como a glutationa (KRANNER et al., 2006), tocoferóis (SATTLER et al., 2004) e os flavonoides presentes na tegumento (testa) os quais atuam no vigor e na longevidade das sementes (JALINK et al., 1998, VANDECASTEELE et al., 2011; VIDIGAL et al., 2016).

A fase de maturação tardia deve ser considerada no campo de produção de sementes, visando obter máxima qualidade fisiológica, (VIDIGAL et al., 2016; LIMA, 2017). No entanto, a escassez de informações sobre os programas de maturação tardia da semente e sobre os genes relacionados a esta fase são ainda um obstáculo à produção comercial de sementes de alta qualidade (LEPRINCE et al., 2016).

Figura 1 - Representação esquemática do desenvolvimento de sementes de soja



Fonte: LE et al., (2007) adaptadas e modificadas por GOLDBERG et al. (1989).

3.2.1 Caracterização fenológica da soja e aquisição de qualidade fisiológica das sementes

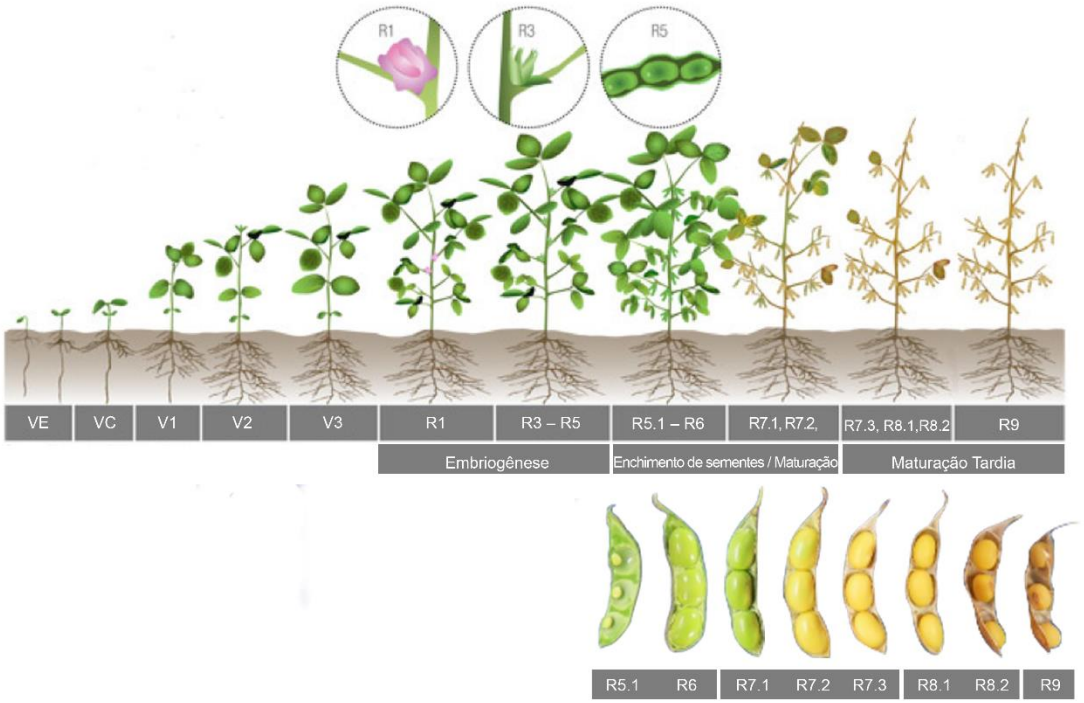
Na soja, os estádios fenológicos são divididos entre vegetativos (V1, V2,.... Vn) e reprodutivos (R1, R2,...R8) (FEHR; CAVINESS, 1977). No entanto, para as sementes desta espécie, ocorre uma subdivisão destes estágios de forma a obter maior precisão em relação a caracterização fisiológica durante a maturação (LIMA et al., 2017) (Figura 1, Tabela1). O conhecimento dos estádios é importante para a correta gestão dos campos de produção de forma a se obter a máxima produtividade (SEDYAMA, 2009). Além disso, a caracterização dos estádios fenológicos da planta e da semente, permite obter maiores detalhes do ciclo da planta, possibilitando conhecer as necessidades de cada fase (BASSO, 2019).

Tabela 1 - Caracterização dos estádios fenológicos da soja.

Estádios	Denominação	Descrição
R1-R5	Embriogênese	Formação e desenvolvimento da vagem
R5.1	Enchimento de sementes	Grãos perceptíveis ao toque com até 10% de sementes cheias
R5.2	Enchimento de sementes	Entre 10% a 25% das sementes cheias
R5.3	Enchimento de sementes	Entre 25% a 50% das sementes cheias
R5.4	Enchimento de sementes	Entre 50% a 75% das sementes cheias
R5.5	Enchimento de sementes	Entre 75% a 100% das sementes cheias
R6	Enchimento de sementes	Vagens com 100% das sementes cheias e folhas verdes
R7.1	Maturação	Mais de 50% das folhas e vagens amarelas
R7.2	Maturação	Entre 51% a 75% das folhas e vagens amarelas
R7.3	Maturação tardia	Mais de 76% das folhas e vagens amarelas
R8.1	Maturação tardia	Até 50% de desfolha
R8.2	Maturação tardia	Mais de 50% de desfolhamento antes da colheita
R9	Maturidade de colheita	Ponto de colheita

Fonte: Descrição de FEHR et al., (1977) com adaptações de LIMA et al., (2017)

Figura 2- Estádios fenológicos e fases de desenvolvimento da soja



Fonte: McWILLIAMS et al., (1999) com adaptações.

Lima et al. (2017), subdividiu os estádios de R5.1 a R5.5, nos quais ocorre o progressivo enchimento das sementes, sendo que na fase R6 as sementes estão completamente desenvolvidas e as folhas verdes. Nos estádios R7.1 e R7.2 inicia-se a maturação, momento no qual 50 a 75% das folhas e vagens estão amarelas. A fase R7.3 é a fase intermediaria da maturação na qual, mais de 76% das folhas e vagens estão amarelas. Nos estádios R8.1 a R9, a maturação tardia, sendo que nas fases R8.1 a R8.2, ocorre mais de 50% de desfolha ne planta e no R9 o ponto de colheita (Tabela 1).

A capacidade de germinação é adquirida no estádio R7.1 e a tolerância à dessecação entre os estádios no estádio R7.1 e R7.2. Nesta fase ocorre ainda o início da degradação da clorofila da semente. No estádio R7.3, fase intermediaria da maturação, as sementes estão desligadas da planta mãe, e as sementes começam a adquirir a longevidade. Após esta fase inicia-se a maturação tardia, sendo que R8 e suas divisões são caracterizados pela redução do teor de água e início da fase de maturação tardia. A longevidade das sementes, é progressivamente adquirida logo após a fase de enchimento das sementes, sendo que durante a maturação, a

longevidade aumenta acentuadamente dos estádios de R7.2 a R9. Na fase de maturação tardia a longevidade aumenta duas vezes até o estádio R9, que corresponde às sementes maduras (ZANAKIS; ELLIS; SUMMERFIELD, 1994; LIMA et al., 2017).

A longevidade é de grande importância, principalmente em relação aos bancos de germoplasma, visando a conservação da espécie, e para indústria de sementes selecionar materiais superiores a fim de potencializar o armazenamento destas sementes por mais tempo.

A longevidade é importante para os aspectos ecológicos e econômicos (SANO et al., 2016), essencial para a manutenção da viabilidade da espécie ao longo do tempo (LEPRINCE et al., 2017). A longevidade varia entre as espécies de plantas e acessos de uma mesma espécie, devido a diferenças no genótipo e no ambiente de produção (HONG; ELLIS, 1996), sendo por isso um importante método para quantificar a qualidade de sementes (ELLIS; ROBERTS, 1980; ZANACKIS et al., 1994).

A longevidade das sementes depende do seu comportamento de armazenamento, das condições ambientais, da qualidade de sementes antes do armazenamento e da própria espécie (KEW ROYAL BOTANIC GARDEN, 2016). A cultura da soja possui baixa longevidade, principalmente em ambientes úmidos e tropicais, o que pode ocasionar perdas inesperadas na viabilidade das sementes e acarretar perdas no campo (SUTHERLAND; DIEKMANN; BERJAK, 2002).

2.4 Influência do ambiente e do genótipo na aquisição da qualidade fisiológica de sementes

A qualidade de sementes responde ao potencial do genótipo e a vários fatores ambientais que interagem no campo de produção afetando sua expressão (BEWLEY et al., 2013). Estresses climáticos e nutricionais, durante o desenvolvimento reprodutivo associados com danos causados por insetos e por microrganismos, alteram de forma direta e indireta a qualidade fisiológica de sementes, variando de acordo com a espécie e o genótipo (DELOUCHE., 1980; LI et al., 2017).

2.4.1 Influência do genótipo

O genótipo afeta a potencial produtivo (FELÍCIO et al., 2010) e qualidade fisiológica de sementes (BEWLEY et al., 2013) existem genótipos com maior adaptabilidade as diferentes locais de produção, possibilitando uma maior qualidade de sementes. Li et al. (2017), estudando diferentes genótipos de *Vicia sativa,* observaram diferenças quanto a qualidade fisiológica e a capacidade de responder ao aumento da temperatura, sugerindo que existe a possibilidade de desenvolver novas cultivares de espécies cultivadas adaptadas a temperaturas globais mais altas.

Genótipos de uma única espécie cultivada sob um ambiente comum podem apresentar longevidade diferente. Estudo com diferentes genótipos evidenciam variação na longevidade, em que a diferença do tempo, em dias, para que as sementes percam 50% da viabilidade entre o maior e menor P50 observado foi de 63 dias (PERISSATO, 2018).

2.4.2 Influência dos fatores abióticos

Os estresses abióticos, principalmente térmicos e hídricos, causam perdas significativas no rendimento agrícola e se tornarão ainda mais prevalentes nas próximas décadas (NOAA, 2016). As condições ambientais influenciam desde a formação da flor e fertilização, e durante o desenvolvimento da semente, afetando sua qualidade final (MARCOS-FILHO, 2015).

Estudos têm evidenciado que em espécies silvestres a longevidade das sementes é afetada pelo ambiente que a planta vive antes da fecundação (KOCHANEK et al. 2010, 2011, revisado em LEPRINCE et al. 2016).

Para a espécie silvestre *Plantago cunninghammi*, foi observado a influência do ambiente pré-zigótico na longevidade, no qual plantas que apresentaram o crescimento pré-zigótico nas condições quente-úmida, quente-seca e fresco-seca e posteriormente, na fase pos-zigótica em condições ideais apresentaram P50 (longevidade) superiores aquelas que cresceram em condições de umidade e frio (KOCHANEK et al., 2011).

Embora a fase vegetativa também sofra influência do ambiente a fase reprodutiva é a mais descrita na literatura. Estudos têm mostrado que condições ambientais podem também afetar a duração total da fase de desenvolvimento das

sementes (embriogênese, maturação ou enchimento de sementes e maturação tardia), sendo a maturação e a maturação tardia as fases mais influenciadas. Desta forma, afeta a aquisição de longevidade (RIGHETTI et al., 2015).

Altas temperaturas e déficit hídrico podem causar a queda de flores, e serem letais ao pólen na fase de fertilização, impedindo-a ou formando sementes inviáveis Altas temperaturas podem causar atraso e desuniformidade na germinação e emergência, pois o grau de permeabilidade do tegumento da semente pode ser altamente variável (GIBSON; MULLEN, 1996). No entanto, estudos relacionados a aquisição de longevidade em dois anos diferentes mostraram que sob temperaturas mais elevadas as sementes apresentaram maior longevidade que em anos mais amenos (LIMA et al., 2017).

He et al. (2014), estudando as temperaturas de 15, 20 e 25 °C e fotoperíodo de dias longo (16 horas) e dias curtos (8 horas), observaram que o aumento da intensidade da luz e da temperatura diminuiu a dormência primária e aumentou a longevidade das sementes para a espécie Arabidopsis.

O estresse hídrico durante as fases posteriores aos estádios reprodutivos (DESCLAUX; HUYNH; ROUMET, 2000), diminui a duração do estágio de enchimento de sementes, o que é fortemente relacionado com o acúmulo de massa de matéria seca (DESCLAUX; ROUMET, 1996). Estudos com déficit hídrico demonstraram que duas cultivares de soja produzidas com e sem déficit, apresentaram P50 menor com o déficit hídrico, com uma redução entre 13-11% em relação ao controle (DUCATTI, 2019).

O fotoperíodo não tem efeitos diretos sobre a taxa de crescimento da cultura, mas regula a duração da maioria das fases do desenvolvimento da soja, principalmente na fase pós zigótica, a duração do período para formação de vagens e sementes está associada a sensibilidade ao fotoperíodo durante o período de pós-florescimento e afeta o número de sementes (THOMAS; RAPER, 1976; KANTOLIC e SLAFFER, 2001).

2.4.3 Influência dos estresses bióticos

Em relação aos estresses bióticos, a expansão das fronteiras agrícolas e principalmente o monocultivo em grandes áreas, tem acarretado problemas em relação ao manejo das culturas e isto tem deixado a cultura da soja mais vulnerável a

diversos patógenos e insetos-praga, levando a grandes perdas na produção (BOERMA; WALKER, 2005).

Entre os principais fatores bióticos que apresentam maiores riscos para a cultura da soja, estão os percevejos. Estes insetos através da alimentação direta atingem as vagens, grãos afetando o rendimento e a qualidade fisiológica das sementes (PANIZZI; SLANSKY JÚNIOR, 1985; VILLAS-BÔAS et al., 1990; BRIER; ROGERS, 1991; PANIZZI et al., 2000; CORRÊA-FERREIRA; AZEVEDO, 2002). Indiretamente a introdução do aparelho bucal nos ramos ou sementes leva a indução de um distúrbio fisiológico na fase de maturação destas plantas, (KIMURA; TOKUMARU; KUGE, 2008; GODOI et al., 2002). Estudos realizados no estado de Mato Grosso, estado com maior produção de soja no Brasil, estimam que os percevejos possam causar uma redução de até 30% na produção de grãos e superiores a 50% quando considerados as perdas na germinação das sementes (VIVAN; DEGRANDE, 2011)

As infestações iniciam no fim do período vegetativo, porém a partir do início do desenvolvimento das vagens, no estádio R3, os diferentes níveis de infestação de percevejos podem afetar negativamente o rendimento e a qualidade das sementes de soja, sendo o período mais crítico o delimitado pelo final do desenvolvimento das vagens (R4) e o início do enchimento das sementes (R5.1) (CORRÊA-FERREIRA; PANIZZI, 1999; com adaptação de escala de RITCHIE et al.,1994), prolongando-se até o final do desenvolvimento das sementes.

A severidade do dano causado pela picada do percevejo depende da localização do dano, da duração do período de alimentação e da frequência de penetração do estilete. A lesão no embrião pode comprometer a germinação, nos cotilédones das sementes resulta na redução do vigor e da sanidade das mesmas, porém ao atingir a região do eixo embrionário, pode inviabilizar a germinação (TRUMPER; EDELSTEIN, 2008). Além disso, podem ocorrer alterações bioquímicas nas frações de proteínas e de lipídeos, vagens com má formação e abortamento de vagens e sementes (CORRÊA-FERREIRA e AZEVEDO, 2002; LOURENÇÃO et al., 2002, CORRÊA- FERREIRA et al., 2009).

A punctura dos percevejos nas sementes é responsável também, pela transmissão de doenças, uma vez que, pelo local de penetração do aparelho bucal dos percevejos é injetado nos tecidos das sementes, enzimas salivares e inoculação de leveduras *Nematospora coryli*, as quais podem também estar associada a fungos

saprófitas, como *Alternaria spp*. e *Fusarium spp.*, (GAZZONI, 1998; KRZYZANOWSKI; FRANÇA-NETO; HENNING 2018).

No Brasil, há poucas cultivares resistente a insetos recomendadas para cultivo. Entre estas se encontram IAC-100 e IAC-17 (ROSSETTO, 1989; PINHEIRO, 1993; VEIGA et al., 1999), além de IAC-23 e IAC-24 (MIRANDA et al., 2001; MIRANDA e LOURENÇÃO, 2002), sendo adaptadas somente à região Sudeste. A cultivar IAC-100 é considerada um genótipo resistente a percevejos e insetos desfolhadores (ROSSETO et al., 1995; PIUBELLI et al., 2005) devido a diversos mecanismos, dentre eles um ciclo menor para granação e rejeição de grãos novos atacados, por exemplo. A resistência desta cultivar ao ataque de percevejo está relacionado à capacidade de abortar as vagens danificadas, substituindo por novas, além de possuir um alto teor de isoflavonas, as quais tem papel fundamental nos mecanismos das plantas para resistência a insetos (RAO; CHATTOPADHYAY; REDDY, 1990; PIUBELLI et al., 2005).

Outros agentes bióticos como alguns insetos de armazenamento, fungos de campo (como *Phomopsis spp*., *Fusarium spp*., *Cercospora kikuchii* e *Colletotrichum truncatum*) *e fungos de armazenamento (*como os das espécies e *Aspergillus spp*. e *Penicillium spp*.) ao infectarem a semente, contribuem para a redução do vigor e da germinação afetando no estande das plantas. Os fungos de campo, são frequentes quando as fases de maturação e/ou colheita coincidem com períodos de alta umidade (chuvas) e quando a umidade das sementes no campo está em torno de 20%. Já os fungos de armazenamento ocorrem quando as condições de armazenamento são inadequadas (umidade e temperatura elevadas), e as sementes possuem umidade entre 13 e 15%, (HENNING, 2005).

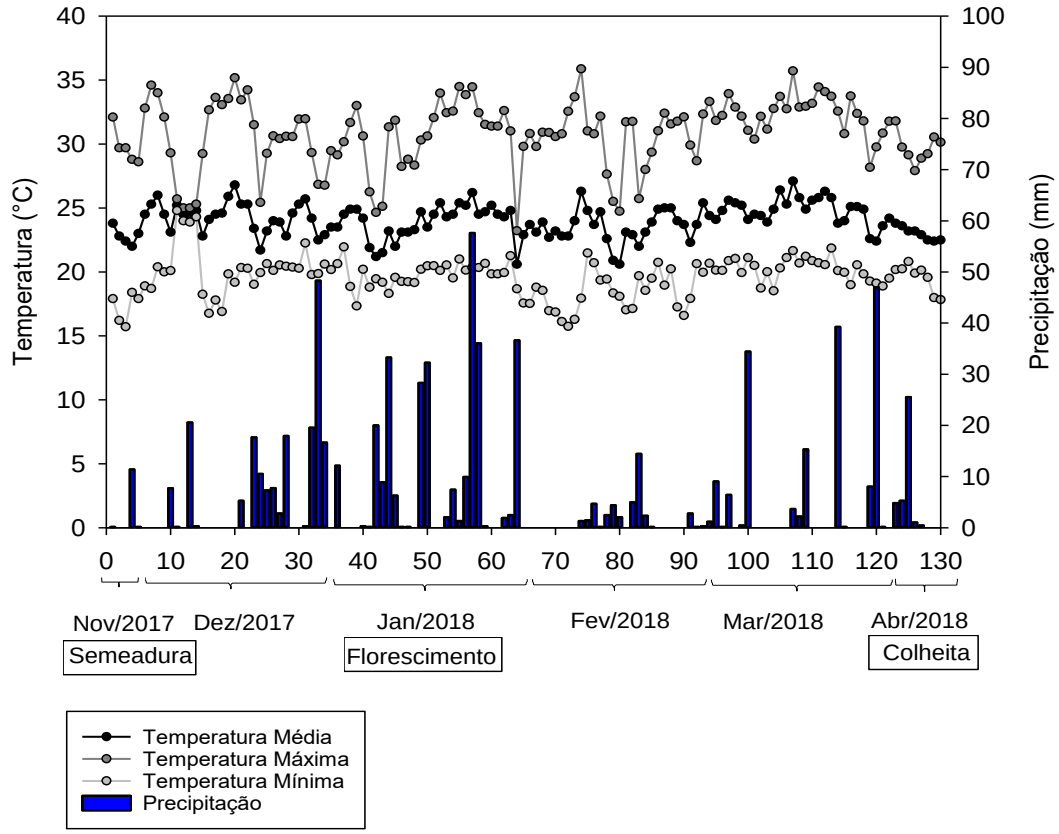
3 MATERIAL E MÉTODOS

As sementes utilizadas neste trabalho foram produzidas durante a safra agrícola 2017/2018, na Estação Experimental do Departamento de Genética e Melhoramento da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, em Anhumas localizada no município de Piracicaba, a latitude 22° 50’ 33”S e longitude 48° 01’20”O e a 468,9 m de altitude.

O solo da área experimental de campo é classificado como Latossolo Amarelo Distrófico (EMBRAPA, 2006), textura média arenosa.

Os dados de temperaturas máxima, média e mínima e de precipitação pluvial durante o período da condução dos experimentos nos anos agrícolas 2017/18 foram obtidos na Estação meteorológica, da Estação Experimental de Anhembi e estão representados a seguir (Figura 3).

Figura 3 - Dados diários de temperaturas máximas, médias e mínimas e precipitação pluvial da Estação Experimental de Anhumas durante o ciclo da cultura da soja



A população avaliada foi composta por dois genótipos parentais (IAC-100 e CD-215) e 166 linhagens recombinantes endogâmicas (RILs) (Tabela 1). Esta população foi obtida a partir do cruzamento entre os genótipos IAC-100 (resistente ao ataque de complexo de percevejos) e CD-215 (suscetível), sendo utilizada a décima terceira (F13) geração de cruzamentos, os quais foram obtidos pelo método de uma única semente (*Single Seed Descent*)

Tabela 2 - Identificação dos 168 tratamentos

Linhagens	Código	Linhagens	Código	Linhagens	Código	Linhagens	Código
1	RIL 1	43	RIL 62	85	RIL121	127	RIL 191
2	RIL 4	44	RIL 63	86	RIL122	128	RIL 194
3	RIL 7	45	RIL 64	87	RIL124	129	RIL 195
4	RIL 8	46	RIL 67	88	RIL126	130	RIL 197
5	RIL 9	47	RIL 69	89	RIL127	131	RIL 198
6	RIL 10	48	RIL 71	90	RIL128	132	RIL 199
7	RIL 11	49	RIL 72	91	RIL130	133	RIL 200
8	RIL 13	50	RIL 73	92	RIL134	134	RIL 201
9	RIL 14	51	RIL 74	93	RIL136	135	RIL 202
10	RIL 16	52	RIL 75	94	RIL137	136	RIL 205
11	RIL 17	53	RIL 76	95	RIL138	137	RIL 206
12	RIL 19	54	RIL 77	96	RIL139	138	RIL 208
13	RIL 21	55	RIL 78	97	RIL140	139	RIL 212
14	RIL 22	56	RIL 79	98	RIL144	140	RIL 214
15	RIL 23	57	RIL 80	99	RIL145	141	RIL 216
16	RIL 24	58	RIL 81	100	RIL146	142	RIL 217
17	RIL 25	59	RIL 85	101	RIL147	143	RIL 218
18	RIL 26	60	RIL 86	102	RIL150	144	RIL 219
19	RIL 27	61	RIL 87	103	RIL152	145	RIL 222
20	RIL 28	62	RIL 88	104	RIL156	146	RIL 225
21	RIL 29	63	RIL 91	105	RIL159	147	RIL 227
22	RIL 30	64	RIL 93	106	RIL161	148	RIL 228
23	RIL 31	65	RIL 96	107	RIL162	149	RIL 229
24	RIL 32	66	RIL 97	108	RIL164	150	RIL 230
25	RIL 33	67	RIL 98	109	RIL165	151	RIL 232
26	RIL 34	68	RIL 99	110	RIL166	152	RIL 233
27	RIL 35	69	RIL 100	111	RIL167	153	RIL 234
28	RIL 36	70	RIL 102	112	RIL169	154	RIL 236
29	RIL 39	71	RIL 103	113	RIL170	155	RIL 238
30	RIL 41	72	RIL 108	114	RIL173	156	RIL 241
31	RIL 42	73	RIL 109	115	RIL174	157	RIL 245
32	RIL 44	74	RIL 110	116	RIL175	158	RIL 247
33	RIL 46	75	RIL 111	117	RIL177	159	RIL 248
34	RIL 47	76	RIL 112	118	RIL179	160	RIL 249
35	RIL 48	77	RIL 113	119	RIL181	161	RIL 250
36	RIL 49	78	RIL 114	120	RIL182	162	RIL 251
37	RIL 50	79	RIL 115	121	RIL184	163	RIL 252
38	RIL 51	80	RIL 116	122	RIL185	164	RIL 253
39	RIL 53	81	RIL 117	123	RIL186	165	RIL 254
40	RIL 55	82	RIL 118	124	RIL188	166	RIL 256
41	RIL 59	83	RIL 119	125	RIL189	167*	IAC-100
42	RIL 60	84	RIL 120	126	RIL190	168*	CD-215

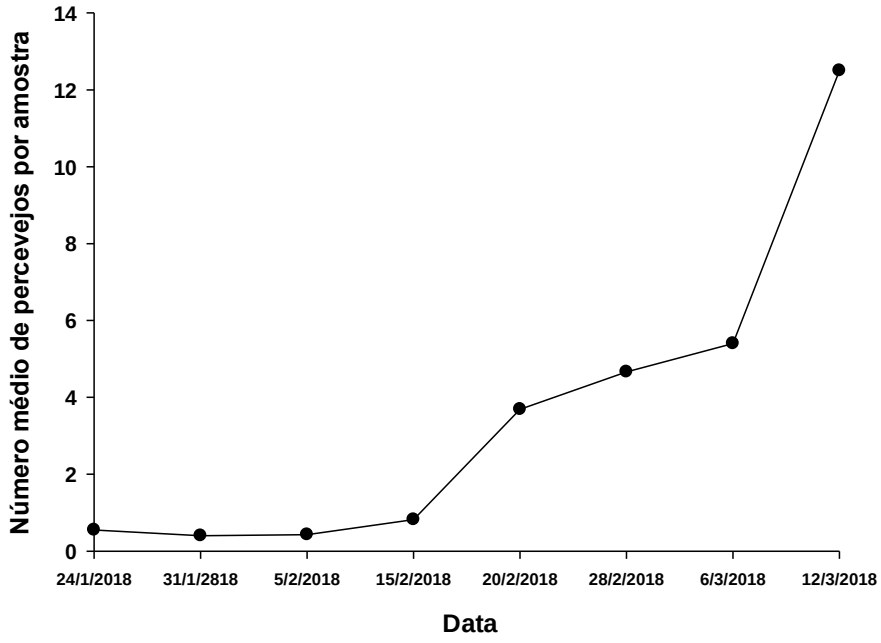
*genótipos parentais

Para a produção de sementes foi utilizado como delineamento experimental um alfa-látice 10 x 26 com três repetições, em um total de 258 RILs. A parcela experimental foi constituída por quatro linhas de cinco metros de comprimento, com espaçamento de 0,5 m entre linhas e contendo 15 sementes metro linear.

O preparo do solo foi executado por grade niveladora. A semeadura foi realizada manualmente, sem tratamento das sementes. Os tratos culturais, as aplicações de fungicidas foram realizadas uniformemente em todas as parcelas, de acordo com as recomendações para a cultura da soja (EMBRAPA, 2013). A irrigação foi realizada sempre que necessário, em função das condições climáticas e umidade do solo.

Não houve controle de insetos na área do experimento de forma a permitir a infestação natural de percevejos a partir de populações já existentes na área experimental. No entanto, foi feito o acompanhamento da população e verificação da existência de percevejos na área através dos panos de batidas do florescimento até a maturação completa (PANIZZI, et al. 1977).

Figura 4 - Média da densidade populacional por amostragem na área experimental



A colheita das plantas foi feita manualmente e debulhadas por trilhadeira mecânica de parcela e posteriormente as sementes foram beneficiadas através do separador do tipo espiral. Foram selecionadas 166 RILS e os dois genitores, e suas sementes armazenadas em sala fria a 20ºC e 70%UR. As avaliações de qualidade fisiológica foram realizadas no Laboratório de Sementes do Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal da Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho (UNESP), Faculdade de Ciências Agronômicas – Campus de Botucatu.

3.1 Determinação do teor de água

O teor de água das sementes foi determinado pelo método descrito pelas Regras de Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009), em estufa a 105 ±3 °C por 24 horas, com quatro repetições de 20 sementes. O conteúdo de água das sementes foi expresso em grama de água por grama de semente úmida.

3.2 Germinação

Protrusão radicular: Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes, distribuídas uniformemente em placas de Petri contendo três folhas de papel toalha, umedecidas com água destilada em quantidade correspondente a 2,5 vezes a massa do papel seco. As placas foram mantidas em germinador regulado à temperatura de 25ºC, sem luz. As leituras foram realizadas diariamente, adotando como critério a protrusão da radícula com comprimento igual ou superior a dois mm. Os resultados foram expressos em porcentagem.

Plântulas normais: Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes, distribuídas uniformemente em folhas de papel toalha, umedecidas com água destilada em quantidade correspondente a 2,5 vezes a massa do papel seco e posteriormente, foram confeccionados os rolos. Os rolos foram acondicionados dentro de sacos plásticos fechados mantidos em germinador regulado à temperatura de 25 ºC, sem luz. As leituras foram realizadas ao quinto e oitavo dia após a instalação do teste, classificando-as a partir de avaliações visuais, conforme descrito pela RAS (BRASIL, 2009). Ao final da contagem foi determinado o percentual de plântulas normais, anormais e mortas.

3.3 Avaliação do Vigor

3.3.1Tempo médio para ocorrência de 50% de germinação (T50)

Foram utilizadas 4 repetições de 25 sementes para cada uma das linhagens, dispostas em placas de Petri com três folha papel toalha umedecido com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco, e colocados em germinador a 25 °C sem luz. As avaliações foram realizadas de seis em seis horas, sendo computado o número de sementes que apresentaram protrusão radicular superior dois milímetros de comprimento. O tempo requerido para germinação de 50% das sementes viáveis (T50) foi calculado por meio da análise de dados de germinação acumulada usando o módulo de ajuste de curva do software Germinator (JOOSEN et al., 2010) e os resultados expressos em horas.

3.3.2 Primeira contagem da germinação

O teste de primeira contagem de germinação foi conduzido juntamente com a avaliação de plântulas normais descrita no item 3.2 no entanto a avaliação foi realizada no quinto dia após a instalação do teste (BRASIL, 2009).

3.3.3 Determinação do Comprimento de plântula e Massa Seca de plântulas

Foram utilizadas quatro repetições de dez sementes dispostas em papel toalha de germinação, umedecido água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco. Uma linha foi traçada no terço superior do papel no sentido longitudinal e as sementes de soja foram posicionadas sobre a linha de forma que a micrópila estivesse voltada para a parte inferior do papel, visando orientar de forma retilínea o crescimento das plântulas (NAKAGAWA, 1999). Os rolos foram acondicionados em sacos plásticos posicionados verticalmente no germinador a 25 ºC e ausência de luz, durante sete dias. Ao final deste período foram avaliados os comprimentos médios da parte aérea e da raiz primária das plântulas normais, expressos em centímetros. Após a avaliação do comprimento, a parte aérea e sistema radicular foram separados e pesados para determinação do peso fresco em balança

de precisão de 0,001g. Posteriormente, o material identificado foi levado para estufa de circulação de ar, mantida a temperatura de 60 ºC até estabilização do peso. Em seguida, foi realizada a pesagem do material resultando no peso médio em gramas (g) de massa de matéria seca.

3.4 Estudo da longevidade

Para a caracterização da longevidade das linhagens de soja, inicialmente as sementes foram armazenadas em sala fria 20 ºC por 7 dias, a fim de estabilizar o teor de água das sementes, em seguida acondicionadas em caixas herméticas com solução saturada de cloreto de sódio e armazenadas a 35 ºC e 75% conforme metodologia descrita por Zinsmeister et al. (2016). Foram retiradas amostras de sementes durante diferentes momentos de armazenamento de acordo com a queda da viabilidade. Após cada período de armazenamento, quatro repetições de 25 sementes foram avaliadas em relação ao seu potencial germinativo pela protrusão da radícula, conforme descrito no item 3. A partir dos resultados obtidos foi elaborada a curva sigmoide de distribuição da longevidade das linhas ao longo do armazenamento e a longevidade foi expressa em P50, definida como o tempo (dias) em que o lote de sementes armazenado perde 50% da viabilidade (ELLIS; ROBERTS, 1980) através do modelo da equação de *probit*:

$$v=(Ki–p)*\sigma \quad (1)$$

Em que: v= viabilidade em dias; Ki= germinação inicial; p= morte esperada no tempo; e σ= inclinação da reta)

3.5 Teor de óleo

O teor de óleo nas sementes foi determinado a partir de um TD-NMR, em espectrômetro (SLK-SG-200 - SpinLock Magnetic Resonance Solutions, Malagueño, Córdoba, ARG) a 25 °C, equipado com um ímã permanente de 0,23 T (9 MHz para 1 H) e uma sonda de 13 mm × 30 mm de área útil, utilizando-se o software Condor IDE com a sequência de pulso CPMG com Qdamper em base seca (BS %) (COLNAGO et al., 2011). Os resultados foram expressos em porcentagem.

3.7 Análise dos resultados

Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro- Wilk. Dados que não apresentaram normalidade foram transformadas em y = arcsen $\sqrt{x/100}$, no caso dos dados em porcentagem (GOMES, 2000) e y= log (x+1) (ZAR, 1996) para os outros dados. Inicialmente, os parentais foram avaliados pelo teste t de *student* pelo Minitab 16, posteriormente foi realizada a análise de variância para todas as linhagens e os parentais, e quando detectado efeitos significativos (P≤0,05), realizou-se a comparação das médias dos tratamentos através do teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade utilizando o programa computacional AgroEstat.

A análise de componentes principais (PCA) foi realizada utilizando as observações das variáveis estudadas. A decomposição dos autovalores e dos autovetores foi usada para a ordenação do primeiro e segundo componente principal que pudesse auxiliar na identificação dos materiais com qualidade superior e inferior. A análise filogenética foi realizada de modo a encontrar clusters dos materiais de qualidade fisiológica inferior e superior pelo método de ligação UPMGA e a distância euclidiana. As análises multivariadas foram analisadas pelo software Minitab 16.

4 RESULTADOS

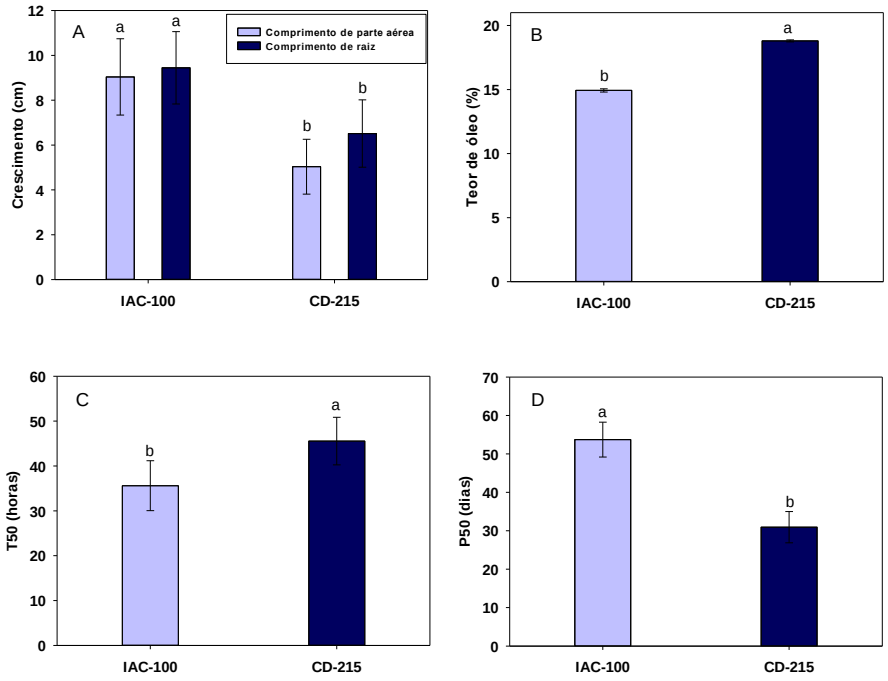
Inicialmente todos os testes fisiológicos foram realizados nos genótipos parentais IAC-100 e CD-215, de forma a observar se estes eram contrastantes em relação a qualidade fisiológica das sementes e, portanto, possibilitando a seleção de linhagens de qualidade fisiológica superior e inferior. Os genótipos parentais apresentaram diferenças em relação ao tempo para alcançar 50% de germinação (T50), longevidade (P50), comprimento de plântulas e teor de óleo (Tabela 3, Figura 4 e 5). Estas diferenças permitiram iniciar os experimentos para caracterizar as linhagens provenientes do cruzamento destes genótipos.

Tabela 3 - Significância das análises de variância das características de qualidade fisiológica de sementes dos parentais IAC-100 e CD-215

Variável	P-value
Plântulas normais (%)	0,229^{ns}
Primeira contagem (%)	0,290^{ns}
Protrusão (%)	0,066^{ns}
T50 (horas)	0,045*
Comprimento de parte aérea (cm)	0,012*
Comprimento de raiz (cm)	0,034*
Massa de matéria seca de parte aérea	0,210^{ns}
Massa de matéria seca de raiz (g)	0,757^{ns}
P50 (dias)	0,001**
Teor de óleo (%)	0,001**

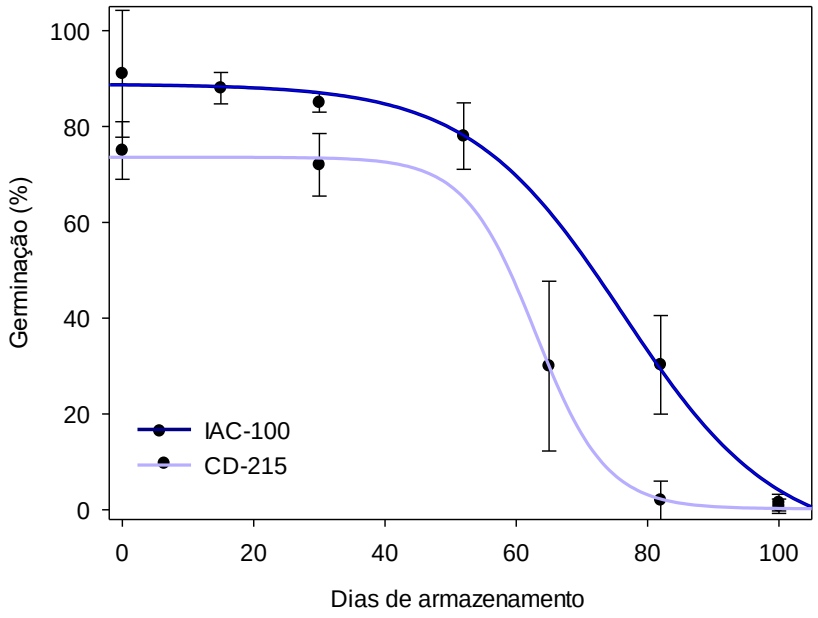
**Genótipos diferem à 1% de significância; * à 5% e ^{ns} os genótipos não diferem estatisticamente pelo teste t.

Figura 5 - Comprimento de parte área e raiz (A), Teor de óleo (B), T50 (C) e P50 (D) para as sementes dos genótipos parentais IAC-100 e CD-215



*Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste t à 5% de probabilidade.

Figura 6 - Longevidade de sementes dos genótipos parentais IAC-100 e CD-215



O teor de água inicial das sementes submetidas ao teste variou de 9 a 10,3% indicando uniformidade de condições para realização dos demais testes (MARCOS-FILHO, 1999), sendo este apenas utilizado para a caracterização inicial das sementes.

Para as linhagens cujas sementes não atingiram o mínimo de 50% de germinação (protrusão radicular), não foram calculados o T50 (tempo médio para redução de 50% de germinação) e P50 (tempo médio para perda de 50% da viabilidade durante o armazenamento), sendo considerado o valor zero para esses tratamentos.

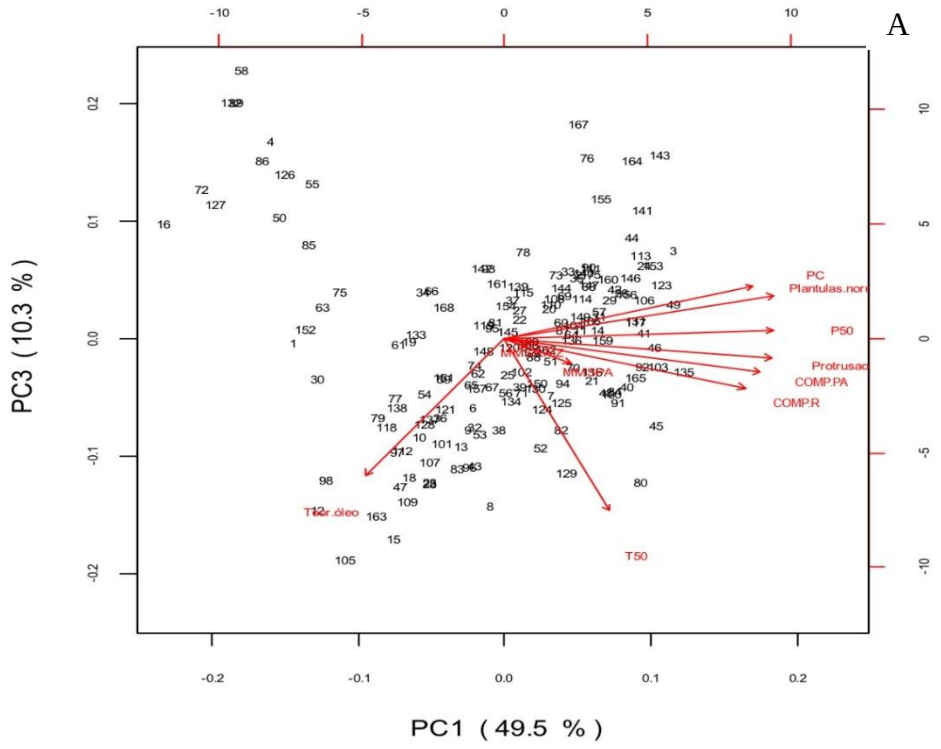
A seleção das linhagens superiores e das inferiores foi realizada com base na caracterização da qualidade fisiológica das sementes por abordagem multivariada. Entre os métodos para seleção de linhagens, abordagens como a análise multivariada vêm sendo amplamente utilizados na cultura da soja (DALLASTRA et al., 2014; VIANNA et al., 2013; SILVA, 2015; LEITE, 2016; ANDRADE et al., 2016). A análise dos componentes principais pode ser aplicada no estudo de divergência genética entre genótipos, uma vez que possibilita a identificação e seleção dos mais promissores para cultivo e melhoramento, além de possibilitar a avaliação da importância do caráter sobre a variação total disponível entre os genótipos avaliados (MOREIRA et al., 2009).

Para definir o número de PCs a serem mantidos é fundamental a quantidade de variação explicada (PIEDADE et al.,2019), a proporção de variância explicada pelos PCs deve corresponder a pelo menos 70% (RENCHER, 2002). Desta forma, os três primeiros PCs explicaram 74,8% de toda a variabilidade no conjunto de dados, sendo 49,45% explicado pelo PC1, 15,09% pelo PC2 e 10,26% por PC3 (Tabela 4).

Tabela 4 – Principais componentes, eigen valor, proporção de variância explicada e proporção acumulativa

Principais componentes	Eigen valor	Proporção	Proporção acumulativa
PC1	2.2238	0.4945	0.4945
PC2	1.2283	0.1509	0.6454
PC3	1.0129	0.1026	0.7480
PC4	0.90876	0.08258	0.83059
PC5	0.81157	0.06587	0.89646
PC6	0.69366	0.04812	0.94457
PC7	0.56132	0.03151	0.97608
PC8	0.32736	0.01072	0.97608
PC9	0.30467	0.00928	0.98680
PC10	0.19799	0.00392	100.000

Figura 7 - Análise das componentes principais das médias das avaliações de componentes de qualidade fisiológica de sementes (PC: primeira contagem, plântulas normais, protrusão, COMP.PA = comprimento de parte área, COMP.RA = comprimento de raiz, MMS.PA = massa de matéria seca de parte área, MMS.RAIZ = massa de matéria seca de raiz, teor de óleo, T50) para os 168 tratamentos. A: (PC1XPC2). B: (PC1XPC3)



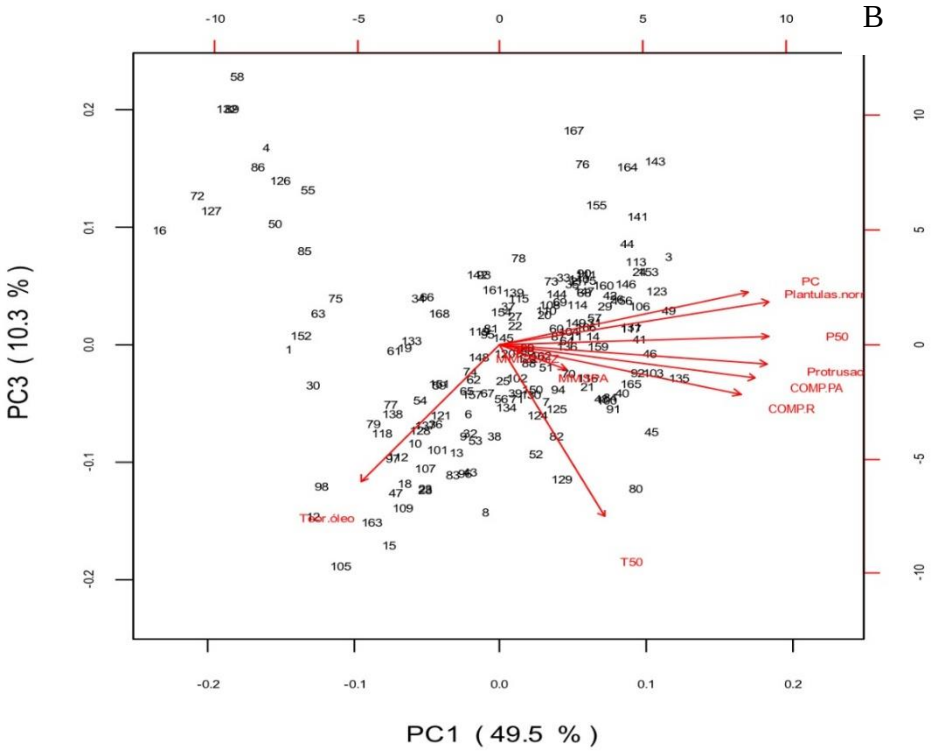


Tabela 5 - Eigen vectores da primeira contagem, plântulas normais, protrusão, COMP.PA (comprimento de parte área), COMP.RA (comprimento de raiz), MMS.PA (massa de matéria seca de parte área), MMS.RAIZ (massa de matéria seca de raiz), teor de óleo, P50, T50 das três componentes principais (PC1, PC2 e PC3)

Variáveis	PC1	PC2	PC3	PC4
Primeira contagem	0.3766	-0.1309	0.2173	-0.0849
Plântulas normais	0.4074	-0.0800	0.1768	-0.0387
Protrusão	0.4043	0.0578	-0.0840	-0.0806
COMP.PA	0.3868	0.0409	-0.1389	0.4024
COMP.RA	0.3644	-0.0320	-0.2071	0.3903
MMS.PA	0.0998	0.6783	-0.1061	0.2185
MMS.RAIZ	0.0320	-0.7052	-0.0391	0.2067
Teor de óleo	-0.2112	-0.1044	-0.5700	0.4320
P50	0.4074	-0.0143	0.0334	-0.1438
T50	0.1574	-0.0444	-0.7166	-0.6105

A análise de PCA possibilitou observar que as variáveis comprimento de parte aérea, comprimento de raiz, protrusão e germinação apresentaram maior correlação entre si dentre as variáveis analisadas e uma correlação negativa em relação a massa de matéria seca de raiz e ao teor de óleo. Além disso, observou-se correlação negativa entre a longevidade e o vigor calculado pelo P50 (Figura 6). Os dados de T50(vigor) e P50(longevidade) apresentaram resultados opostos, o que é esperado durante a

análise de qualidade de sementes. Portanto, as componentes PCA3 e PCA1 explicam melhor os resultados obtidos da análise multivariada e, portanto, foram utilizados para selecionar as variáveis.

Neste estudo, as linhagens superiores e inferiores foram selecionadas principalmente pela alta qualidade fisiológica de sementes, determinados na PCA (PC3 x PC1). Desta forma, as linhagens pertencentes ao primeiro quadrante são consideradas superiores e as com posicionamento contrário são classificadas como inferiores (Figura 6B). Dentro do segundo quadrante as linhagens 3, 24, 44, 76, 113, 141, 143, 153, 155, 164 e 167, se destacaram pela qualidade fisiológica em relação as demais, e as linhagens 12, 18, 28, 47, 97, 98, 105, 107, 109, 112, 163, apresentaram comportamento inferior em relação às demais pertencentes ao terceiro quadrante (Figura 5). No entanto, o genótipo 167 (IAC-100), foi apenas utilizado para comparação (Figura 6B).

A comparação de médias pelo teste de Scott-Knott, possibilitou maior compreensão do comportamento das linhagens selecionadas em relação às demais, em que os valores de significância do teste de variância para o delineamento inteiramente casualizado das avaliações selecionadas são demonstrados no Apêndice A e B.

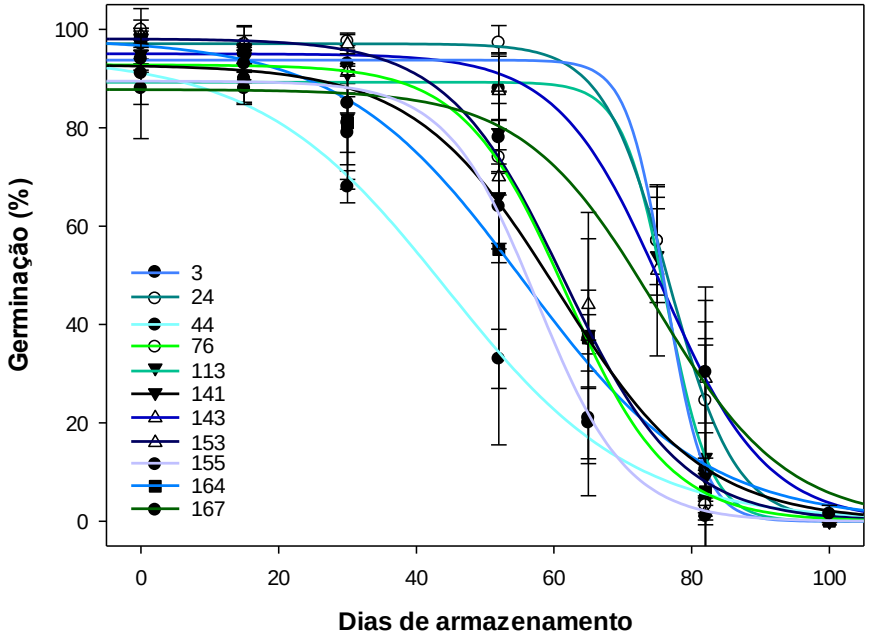
Em relação à geminação inicial observou-se contraste em relação as linhagens superiores e inferiores, (Figura 7), assim como na longevidade calculado pelo P50 (Figura 8). Além disso, as linhagens superiores apresentaram teor de óleo inferior, com exceção da linhagem 105 (Apêndice A). Para o parâmetro T50, as linhagens superiores apresentaram menor tempo para atingir 50% de germinação com exceção da linhagem 44, a qual foi superior a linhagens classificados como inferiores (Figura 7). Nos outros testes de vigor como comprimento, massa de matéria seca e primeira contagem também foi possível constatar as diferenças entre as linhagens (Apêndice B).

O mesmo comportamento pode ser observado em relação aos outros parâmetros de vigor avaliados, no qual foi possível observar comportamentos contrastes em relação a massa de matéria seca, comprimento de plântulas e primeira contagem. No entanto, com exceção da massa de matéria seca, a maioria das linhagens consideradas superiores se destacou nas variáveis de vigor. Foi possível observar também que o genitor com qualidade fisiológica superior IAC-100 (167),

apresentou primeira contagem, massa de matéria seca, comprimento e germinação por plântulas normais valores inferiores as linhagens consideradas superiores.

Figura 8 - Longevidade de sementes para as linhagens selecionadas como qualidade fisiológica superior (A) e inferior (B)

A



B

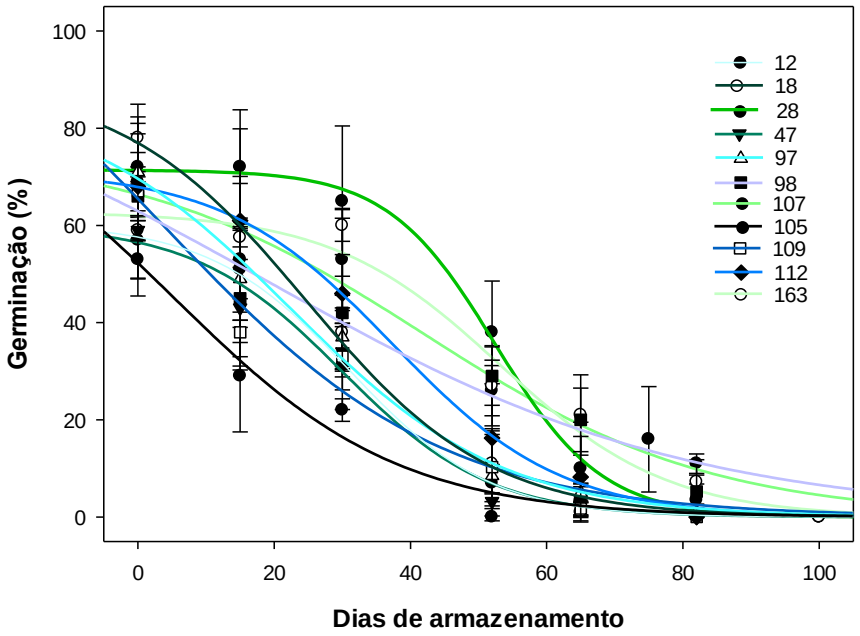


Figura 9 - P50 das linhagens selecionadas como qualidade fisiológica superior e inferior

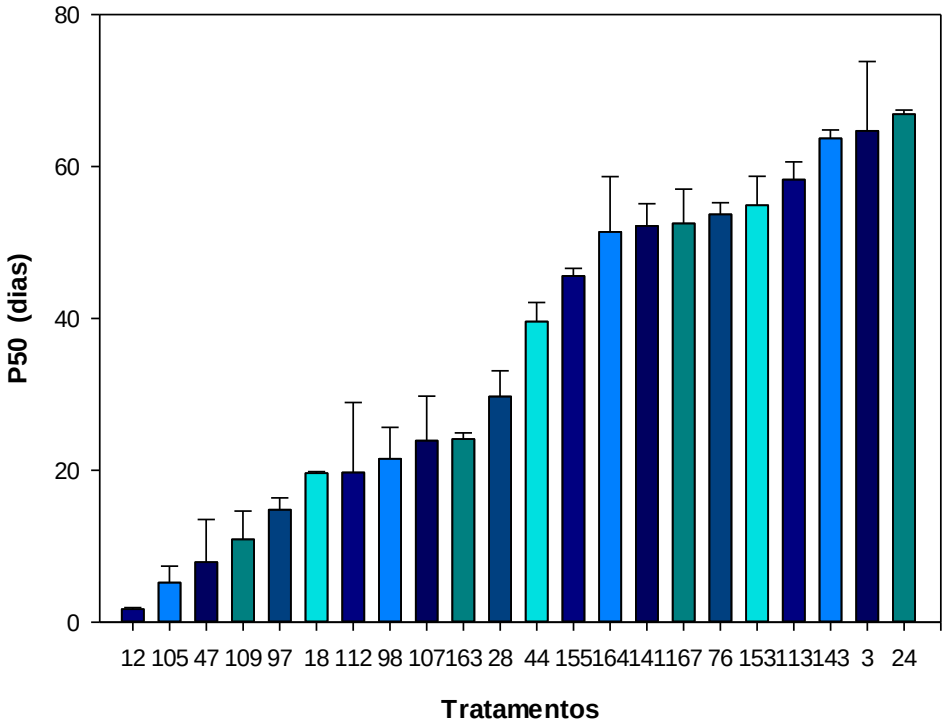
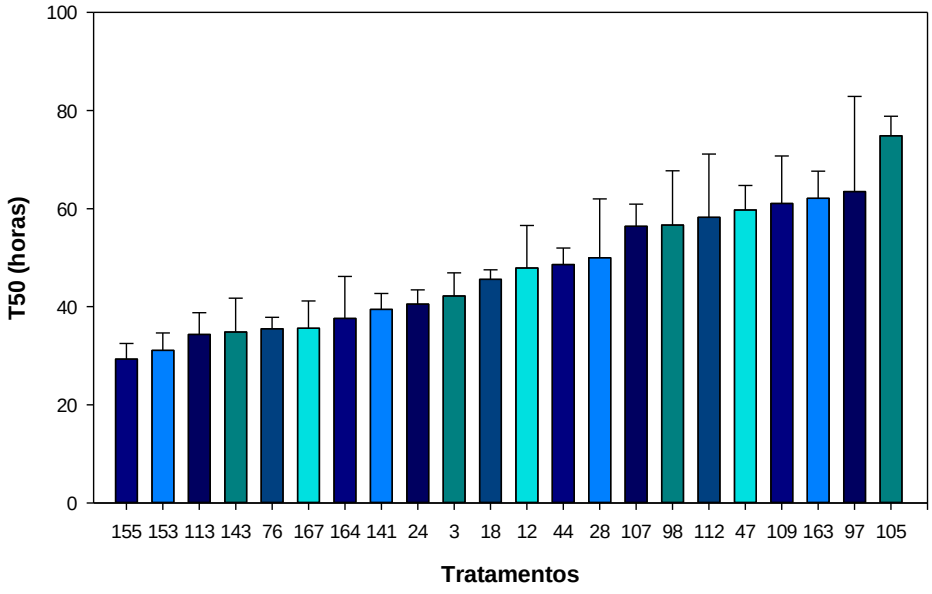
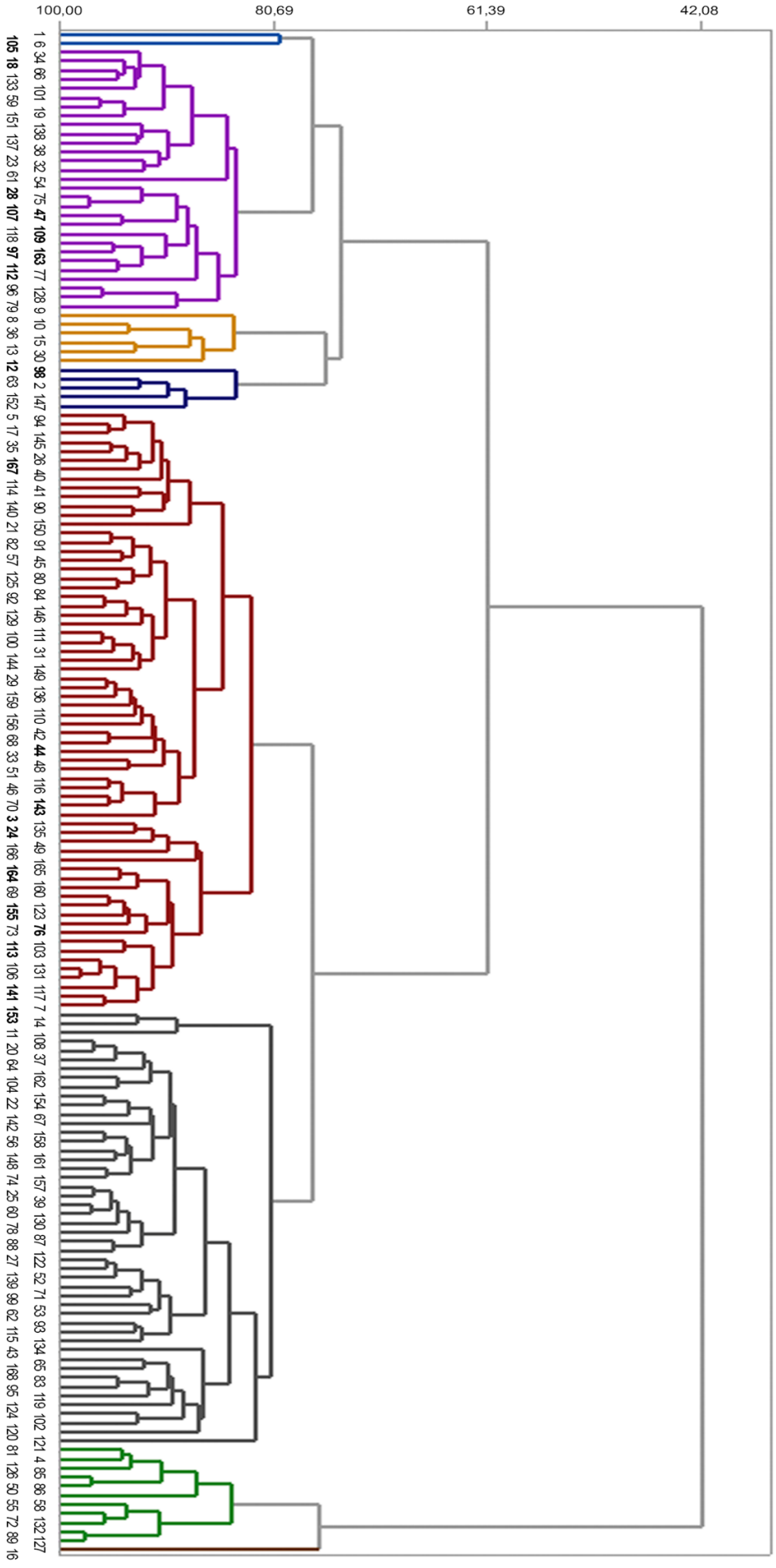


Figura 10 - Tempo para a ocorrência de 50% de germinação das linhagens selecionadas como qualidade fisiológica superior e inferior



A fim de observar como as linhagens selecionadas estão agrupadas fisiologicamente, foi realizado análise de agrupamento pelo método UPGMA (Figura 10), no qual verificou-se que as 166 linhagens e os 2 genótipos foram agrupado em 8 grupos, utilizando como critério o número de grupos formados pela Scott-Knott para a variável de maior peso na PCA, plântulas normais.

Figura 11 - Dendrograma resultante da análise de 166 linhas e 2 genótipos de soja com base em dez variáveis fisiológicas (plântulas normais, protrusão, primeira contagem, comprimento de parte aérea, comprimento de raiz, massa de matéria seca de parte aérea, massa de matéria seca de raiz, T50, P50, teor de óleo) utilizando a distância euclidiana e o método de agrupamento UPGMA.


100,00
80,69
61,39
42,08
105 18 133 59 151 137 23 61 28 107 118 97 112 96 79 8 36 13 12 63 152 5 17 35 167 114 140 21 82 57 125 92 129 100 144 29 159 156 68 33 51 46 70 3 24 166 164 69 155 73 113 106 141 153 11 20 64 104 22 142 56 148 74 25 60 78 88 27 139 99 62 115 43 168 95 124 120 81 126 50 55 72 89 16
1 6 34 66 101 19 138 38 32 54 75 47 109 163 77 128 9 10 15 30 98 2 147 94 145 26 40 41 90 150 91 45 80 84 146 111 31 149 136 110 42 44 48 116 143 135 49 165 160 123 76 103 131 117 7 14 108 37 162 154 67 158 161 157 39 130 87 122 52 71 53 93 134 65 83 119 102 121 4 85 86 58 132 127

A análise de agrupamento é importante pois possibilita classificar indivíduos em grupos de forma a maximizar sua homogeneidade dentro dos grupos e discriminar a heterogeneidade entre os grupos. O dendrograma, no qual as amostras semelhantes são agrupadas entre si, são obtidos através do método hierárquico que interliga as amostras por suas associações (MOITA NETO; MOITA, 1998).

A análise de agrupamento hierárquico utilizando a distância Euclidiana e a ligação entre os grupos pelo método de ligação UPGMA mostra a classificação das progênies e do grupo à qual pertencem. O eixo X representa as progênies e o eixo Y representa as distâncias para os parâmetros fisiológicos de acordo com as variáveis: primeira contagem, plântulas normais, protrusão, comprimento de parte aérea, comprimento de raiz, massa de matéria de parte aérea, massa de matéria seca de raiz, teor de óleo, T50 e P50. Desta forma, esse tipo de análise é uma forma eficiente de seleção de genótipos, demonstrando ser complementar à análise de componentes principais (PITTA et al., 2010).

As linhagens selecionados estão destacadas em negrito no dendrograma, sendo possível observar que as linhagens superiores em relação aos parâmetros de qualidade fisiológica se agruparam no quinto grupo apresentando uma similaridade de 80,22%, com execução da linhagem 153, que apresentou a germinação por plântulas normais um pouco inferior às demais, se agrupando no grupo próximo, apresentando uma similaridade de 80,75% em relação às demais (Figura 10).

A linhagem 16 permaneceu isolado no primeiro grupo (Figura 10), por apresentar baixa qualidade fisiológica, sendo a que a linhagem com menor porcentagem de germinação, o que pode ser confirmado observado o Apêndice A e B. As linhagens 1 e 105 se agruparam no grupo um por apresentarem baixa qualidade fisiológica, possuindo comportamento semelhante, principalmente em relação a porcentagem de plântulas normais e protrusão.

Em relação as linhagens com qualidade fisiológica inferior, observou-se que as 28, 47, 97, 107, 109, 112, 163 agruparam-se no segundo grupo, enquanto as linhagens 12, 98, no quarto grupo e 18 no oitavo grupo, apresentando similaridade inferior a 45%.

Os grupos formados pelo agrupamento apresentaram alta homogeneidade interna e alta heterogeneidade externa na análise da divergência genética, sendo, portanto, as linhagens dentro dos conjuntos mais próximos, mutuamente similares, e distintos dos demais (LINDEN, 2009).

O dendrograma, portanto agrupou as linhagens com maior qualidade superior, o que denota a eficiência e precisão dos métodos utilizados para seleção, assim como a superioridade das linhagens discriminadas em relação as demais, os quais possuem indicativos de no futuro serem lançados como cultivares comerciais. Observa-se também que as linhagens de qualidade inferiores apresentam parâmetros de qualidade fisiológicos não uniformes (Figura 10)

Para melhor entender o agrupamento, foi estudado a correlação entre as variáveis, de forma a compreender como estas se correlacionam entre si. Para isto foi escolhida a correlação de Pearson. O coeficiente de correlação linear de Pearson (r) é utilizado para medir a força, intensidade ou o grau de relação linear entre duas variáveis aleatórias (BARBETTA; REIS; BORNIA, 2004; KAZMIER, 2007; FERREIRA, 2009).

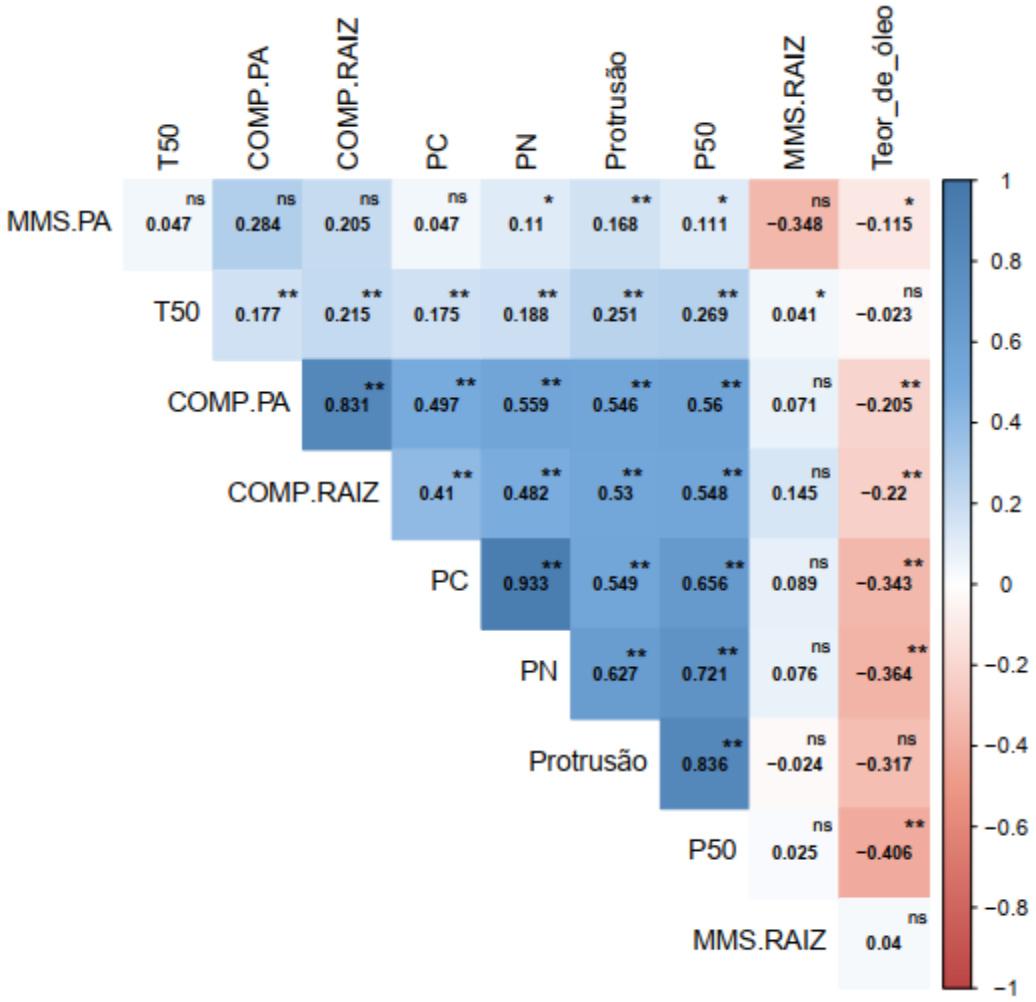
Observou-se que a maioria dos dados apresentou correlação positiva a 1% de significância. Segundo Markus (1973), valores iguais ou superiores a 0,6 apresentam alta correlação. Desta forma, foram consideradas fortes correlações a primeira contagem e plântulas normais ($\rho = 0,933$), comprimento de parte aérea e raiz ($p = 0,831$), P50 e plântulas normais ($\rho = 0,721$), P50 e protrusão ($\rho = 0,836$) (Figura 11).

A alta correlação entre a primeira contagem do teste de germinação com a germinação por plântulas normais, evidencia a relação entre germinação e vigor, ou seja, a medida em que ocorre maiores porcentagens de plântulas normais maior será a velocidade germinação.

Por outro lado, as características de vigor (desempenho de plântulas e velocidade de germinação), possuem baixa correlação com a longevidade, com exceção da primeira contagem do teste de germinação. Já as variáveis de características de germinação (primeira contagem, plântulas normais e protrusão radicular) estão correlacionadas positivamente com a longevidade das sementes (P50, dias).

Todas essas correlações podem ser evidencias nas análises multivariadas, comprovando a eficiência destes testes para a seleção de linhagens de soja.

Figura 12- Correlação de Pearson para as variáveis PN (plântulas normais), protrusão, PC (primeira contagem), T50, P50, COMP.PA (comprimento de parte aérea), COMP.RAIZ (comprimento de raiz), MMS.PA (massa de matéria seca de parte aérea, MMS.RAIZ (massa de matéria seca de raiz) e teor de óleo.



Linhagens diferem à 1% de significância; *Linhagens diferem à 5% de significância, ns as linhagens não diferem estatisticamente pelo teste de correlação de Pearson

5 DISCUSSÃO

A qualidade das sementes é determinada, pelo seu potencial fisiológico e influenciado pelo genótipo e as condições climáticas, o qual pode ser definido pela capacidade da semente em realizar suas funções vitais para sua sobrevivência, reunindo informações sobre a germinação, viabilidade, vigor e longevidade (BEWLEY et al., 2013). O ambiente de produção de sementes de soja está cada vez mais susceptível a alterações climáticas (BHATTARAI; SECCHI; SCHOOF, 2017, ZHAO et al., 2017), sendo que os estresses abióticos podem causar perdas significativas no rendimento agrícola e se tornarão ainda mais prevalentes nas próximas décadas (NOAA, 2016). Além disso com expansão das fronteiras agrícolas da cultura da soja tem surgido problemas em relação ao seu manejo, principalmente devido ao sistema de monocultivo em grandes áreas. Isto tem deixado a cultura da soja mais vulnerável a diversos patógenos e insetos-praga (BOERMA; WALKER, 2005), principalmente ao ataque de percevejos os quais são responsáveis por afetar a produtividade e a qualidade das sementes.

Neste sentido este trabalho procurou caracterizar linhagens com qualidade fisiológica contrastante de parentais com qualidade fisiológica de sementes distintas, sendo um resistente ao complexo de percevejo e outro suscetível. Neste estudo foi possível observar contraste entre as linhagens em relação a todos os parâmetros avaliados, possibilitando a seleção de linhagens superiores e inferiores.

A seleção de linhagens é uma importante etapa dentro dos programas de melhoramento genético visando o desenvolvimento de cultivares com caracteres de interesse. Sendo assim, devem ser considerados quais são os melhores métodos para obtenção das linhagens de qualidade superior e estratégias para a seleção destas, com enfoque na produtividade e resistência a fatores bióticos e abióticos. Neste sentido, se integra ao programa de melhoramento características relacionadas a qualidade fisiológica das sementes, tendo em vista a sua importância para a implantação e o desenvolvimento do estande de plantas. Todavia, pouca importância tem sido dada a longevidade que é um componente importante da qualidade fisiológica, das sementes para a seleção de materiais.

Para o melhoramento genético a variabilidade possibilita a expressão do potencial da população para a seleção (RAMALHO; SANTOS; PINTO,1996), sendo de interesse dos melhoristas a maior variabilidade genética nas plantas, para que os

processos de seleção resultem em ganhos genéticos significativos (BERNARDO, 2002). Este pressuposto do melhoramento vegetal salienta a divergência verificada entres os parentais no presente estudo.

Poucos estudos objetivam a seleção de acessos em relação a qualidade fisiológica de semente, limitando-se apenas a germinação e o vigor (VASCONCELOS, 2012; BIZARI, 2014; MARTINS et al., 2016). No entanto, em condições de grandes contrastes como nas linhagens do presente estudo, parâmetros como germinação (plântula normal, protrusão) e P50 parecem ser os mais influentes.

A germinação é um parâmetro representativo para seleção de linhagens de soja em conjunto com testes de vigor, enfatizando que existe a possibilidade de ganhos com a seleção através de caracteres relacionados a qualidade de sementes (MARTINS, 2016). A longevidade ou capacidade de armazenamento de sementes tem-se tornado uma característica de interesse para programas de melhoramento por reduzir o risco de perda de viabilidade durante o armazenamento e por causa de sua correlação com alta germinação e vigor (LIN et al., 2015).

Para o padrão de comercialização de sementes, estas devem ser capazes de formar 80% de plântulas normais (BRASIL, 2009), dentre as 166 linhagens estudados, observou-se que nas condições em que foram produzidas, apenas 37 linhagens, atenderam esse requisito. Este fato reflete na pouca importância que tem sido dado a esses caracteres por programas de melhoramento genético, uma vez que a soja vem sendo melhorada, principalmente, visando caracteres de produção e adaptação (KRZYZANOWSKI, 1998) e revela ainda mais a necessidade dos programas de melhoramento incluir estudo sobre a qualidade fisiológica de sementes.

Neste estudo, foi observado que existe uma diferença em relação a longevidade dos descendentes de 65,6 dias entre o maior e menor P50. É importante destacar, que o cálculo do P50 foi realizado apenas para os tratamentos que atingiram o mínimo de 50% de germinação avaliada pela protrusão das radículas, ou seja, alguns tratamentos não atingiram nem 50% de germinação, evidenciando ainda mais o contraste que existe entre em relação a este parâmetro. Perissato (2019), estudando a longevidade de 47 genótipos de soja produzidos sob mesmas condições e ambiente observou uma diferença entre o maior e menor P50 de 63 dias, demonstrando a influência do genótipo na manutenção da viabilidade durante o armazenamento.

Contrastes em relação ao vigor também foram constatados em relação a todos aos parâmetros avaliados, principalmente em reação ao T50, no qual foi

observada diferença de 45,9 dias entre o maior e menor tempo. Sementes com menor vigor, possuem maior variação na sua composição, e consequentemente maior desuniformidade e menor velocidade na emergência. Schuch et al. (1999) observaram que a redução do vigor em sementes de aveia, aumentou o tempo médio necessário para a protrusão das radículas, assim como reduziu o número médio de radículas emitidas por dia.

Além disso, foi constatado contraste em comprimento e massa de matéria seca de plântula, revelando que alguns tratamentos possuem maior conteúdo de reserva, necessária para o desenvolvimento inicial da planta. Segundo Henning et al., (2010), genótipos que têm sementes com alto vigor resultam em maior potencial de gerar plântulas de maior comprimento, tendo em vista a maior capacidade de mobilização de reservas na germinação, com melhor desempenho inicial, estando também associados a aumento na produção de biomassa seca.

Apesar de existirem alguns estudos relacionadas a qualidade fisiológica de sementes, não existe ainda na literatura estudos de seleção de linhagens visando a viabilidade do material durante o armazenamento, a qual é um fator limitante para implantação da cultura da soja (PALLAVI et al., 2018), em função deste componente preservar as características relacionadas a viabilidade das sementes durante o armazenamento.

A longevidade é afetada por características que estão sob o controle genético, como tamanho da semente, dureza, espessura da camada do tegumento, permeabilidade, porcentagem de casca e teor de óleo (TRIPATHI; KHARE, 2016). Portanto, a presença de alto teor de óleo nas sementes está associada a baixa qualidade fisiológica conforme verificado no presente estudo (Figura 11). Em síntese, linhagens selecionadas para produção de óleo terão menor tempo de armazenamento. O conteúdo de óleo é inversamente associado ao conteúdo de proteína presente nas sementes de soja (SEDIYAMA et al., 1993), a qual está relacionado com a qualidade fisiológica de sementes (WILCOX; CAVINES, 1992; RAO et al., 1993), uma vez que as proteínas são utilizadas na formação de componentes estruturais durante o crescimento de plântulas (ZIEGLER, 1995).

Todavia, como demonstrado neste estudo o vigor não é um parâmetro adequado para predizer armazenamento, em função das baixas correlações verificadas entre desempenho de plântulas e velocidade de germinação. Este fato se deve ao vigor ser uma característica inata de cada genótipo e resultante da interação

ambiental, o que faz com que a grande diversidade de resposta não permita correlação em situação de grande variabilidade genética. Além disso, sabe-se que o vigor é um o conjunto de propriedades fisiológicas (ISTA, 2014), portanto não poderia ser dimensionado apenas pelos parâmetros avaliados neste estudo ou possivelmente o vigor deveria ser avaliado ao longo do armazenamento.

Esta pesquisa possibilitou a seleção de linhagens contrastantes. A definição de linhagens contrastantes auxilia em estudos mapeamento de QTLs (Quantitative Trait Loci) e analise de transcriptomas envolvidos na qualidade fisiológica de sementes, contribuindo para uma melhor ilustração da arquitetura genética desta característica. Além disso, os QTLs e transcriptomas auxiliam nos programas de melhoramento genético na identificação e seleção de linhagens ou genótipos que possuam os alelos desejáveis, possibilitando o desenvolvimento de marcadores moleculares, que auxiliam na seleção de linhagens de forma mais rápida para a qualidade fisiológica de sementes.

6 CONCLUSÕES

As linhagens apresentaram contrastes em todos os parâmetros avaliados, possibilitando selecionar linhagens superiores 3, 24, 44, 76, 113, 141, 143, 153, 155 e 164, e as inferiores 12, 18, 28, 47, 97, 98, 105, 107, 109, 112 e 163.

A longevidade possui alta correlação com germinação e com vigor, avaliado pela primeira contagem.

REFERÊNCIAS

ALBRECHT, L.P. et al. Teores de óleo, proteínas e produtividade de soja em função da antecipação da semeadura na região oeste do Paraná. **Bragantia**, v.67, n.4, p.865-867, 2008.

ANDRADE, A. C. B. et al. Strategies for selecting soybean genotypes using mixed models and multivariate approach. **African Journal of Agricultural Research**, Ebène, v. 11, n. 1, p. 23-31, 2016.

APROSOJA (2016B) Associação dos produtores de soja- Uso da soja. In: Uso da soja. Disponível em: <http://aprosojabrasil.com.br/2014/sobre-a-soja/. Acesso: 15 dez. 2017.

ARAÚJO, M. L. S. et al. Spatiotemporal dynamics of soybean crop in the Matopiba region, Brazil (1990–2015). **Land Use Policy, Amsterdam**, v. 80, p. 57-67, 2019.

BARBETTA, P. A.; REIS, M. M.; BORNIA, A. C. **Estatística para cursos de engenharia e informática**. Vol.3. São Paulo: Atlas, 2004. 410 p.

BARBOSA, V. S. et al. Comportamento de cultivares de soja, em diferentes épocas de semeaduras, visando à produção de bicombustível. **Revista Ciência Agronômica**. v.42, n.03, p.742-7499, 2011.

BASSO, D. P. et al. Late seed maturation improves the preservation of seedling emergence during storage in soybean. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 40, n. 2, 2018.

BERNARDO, R. Breeding for Quantitative Traits in Plants. Woodbury: **Stemma Press,** 2002. 360 p.

BEWLEY J. D. et al.. Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy. **New York: Springer**, v.3, 2013. 408 p.

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

BHATTARAI, M.D.; SECCHI, S.; SCHOOF, J. Projecting corn and soybeans yields under climate change in a Corn Belt watershed. **Agricultural Systems**, London, v. 152, p.90-99, 2017.

BIZARI, E. H. et al. Genetic diversity in early-maturing soybean genotypes based on biometric and molecular parameters. **Journal of Food, Agriculture & Environment,** v.12, n.1, p.259-265, 2014.

BOERMA, H. R.; WALKER, D. R. **Discovery and utilization of QTLs for insect resistance in soybean.** Genetica, v. 123, n. 1-2, p. 181-189, 2005.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V.; FRITSCHE-NETO, R**. Melhoramento de Plantas**. 7 Ed. Viçosa: Editora UFV, 2017. 543p.

BORNHOFEN, E. et al. Épocas de semeadura e desempenho qualitativo de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 45, n. 1, p. 46-55, 2015.

BUENO, L. C. S.; MENDES, A. N. G.; CARVALHO, S. P. **Melhoramento genético de plantas: princípios e procedimentos**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 319 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: SNAD/DNDV/CLAV, 2009, 398p.

BRIER, H.; ROGERS, J. Susceptibility of soybean to damage by Nezara viridula (L.) (Hemiptera: Pentatomidae) and Riptortus serripes (F.) (Hemiptera: Alydidae) during three stage of pod development. **Journal of Australian Entomological Society**, v.30, p.123-128, 1991.

CARBONELL, S. A. M.; KRZYZANOWSKI, F. C. The pendulum test for screening soybean genotypes for seeds resistant to mechanical damage. **Seed Science and Technology**, v. 23, n. 2, p. 331-339, 1995.

CHATELAIN, E. et al. Temporal profiling of the heat-stable proteome during late maturation of *Medicago truncatula* seeds identifies a restricted subset of late embryogenesis abundant proteins associated with longevity. **Plant, cell & environment**, v.35, n.8, p.1440-1455, 2012.

Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). **Acompanhamento da safra brasileira - grãos - safra 2017/2018** - N. 12 - Décimo segundo levantamento-set/2018. Brasília: CONAB, v.5, 2018. 155 p.

Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). **Acompanhamento da safra brasileira - grãos - safra 2018/2019** - N. 7 - Sétimo levantamento - abr/2019. Brasília: CONAB, v.7, 2019. 115 p.

COLNAGO, L. A. et al. (2011). Rapid analyses of oil and fat content in agri-food products using continuous wave free precession time domain NMR. **Magnetic** Resonance in Chemistry, 49, p. S113-S120, 2011.

CORRÊA-FERREIRA, B.S.; PANIZZI, A.R. **Percevejos da soja e seu manejo.** Londrina: EMBRAPA - CNPSo, 45p.,1999, (Circular Técnica, 24).

CORRÊA-FERREIRA, B.S.; AZEVEDO, J. Soybean seed damage by different species of stink bugs. **Agriculture and Forest Entomology**, v.4, p.145-150, 2002.

COSTA, N.P. et al. Efeito da colheita mecânica da soja sobre as características físicas, fisiológicas e químicas das sementes produzidas em três estados do Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 23, n. 1, p.140-145, 2001.

COSTA, N. P. et al. Metodologia alternativa para o teste de tetrazólio em semente de soja: série sementes. **Embrapa Soja-Circular Técnica** (INFOTECA-E), 2007.

DALLASTRA, A. et al. Multivariate approach in the selection of superior soybean progeny which carry the RR gene. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 3, p. 588-597, 2014.

DESCLAUX, D.; ROUMET, P. Impact of drought stress on the phenology of two soybean (Glycine max L. Merr) cultivars. **Field Crops Research**, v. 46, n. 1-3, p. 61-70, 1996.

DESCLAUX, D.; HUYNH, T.; ROUMET, P. Identification of soybean plant characteristics that indicate the timing of drought stress. **Crop science**, v. 40, n. 3, p. 716-722, 2000.

DELLAGOSTIN, M. et al. Dissimilaridade genética em população segregante de soja com variabilidade para caracteres morfológicos de semente. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 4, 2011.

DELOUCHE, J.C. Environmental effects on seed development and seed quality. **HortScience**, Alexandria, v. 15, n. 6, p. 775–780, 1980.

DEMIR, I.; ELLIS, R. H. Changes in seed quality during seed development and maturation in tomato. **Seed Science Research,** Wallingford, v. 2, n. 2, p.81-87, 1992.

DUCATTI, K. R. **Vigor de sementes de soja: estudos fisiológicos e moleculares relacionados ao déficit hídrico**. 2018. 147p. Tese (Doutorado em Agronomia/Agricultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2018.

ELLIS, R. H.; ROBERTS, E. H. Improved equations for the prediction of seed longevity. **Annals of Botany**, n. 45, p. 13- 30, 1980.

Embrapa. Solos. Sistema brasileiro de classificação de solos. **Centro Nacional de Pesquisa de Solos**: Rio de Janeiro, 2006.

EMBRAPA, S. Tecnologias de produção de soja–região central do Brasil 2012 e 2013. Londrina: Embrapa Soja, v.5, 2013. 261p.

FRANÇA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKi, F.C. Estratégias do melhoramento para produção de sementes de soja no Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE ATUALIZAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS: **Melhoramento de plantas e produção de sementes no Brasil**, 7., 2003, Lavras. Anais... Lavras: UFLA, 2003. CD ROOM.

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1977. 11p. (Special Report, 80).

FELÍCIO, J. C. et al. Potencial produtivo, resistência á ferrugem da folha e qualidade industrial da farinha em genótipos de trigo. **Bragantia**, v.69, n.4, 2010

FERREIRA, D. F. **Estatística básica**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2009. 664 p.

FINCH-SAVAGE, W. E.; LEUBNER-METZGER, G.. Seed dormancy and the control of germination. **New phytologist**, v. 171, n. 3, p. 501-523, 2006.

FINCH-SAVAGE, W. E.; BASSEL, G. W. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. **Journal of experimental botany**, v. 67, n. 3, p. 567-591, 2015.

GASPAR-OLIVEIRA, C. M. et al.. Relationship between pod permeability and seed quality in soybean. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 3, p. 273-281, 2014.

GAZZONI, D.L. Efeito de populações de percevejos na produtividade, qualidade da semente e características agronômicas da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** v.33, p.1229-1237, 1998.

GIBSON, L. R.; MULLEN, R. E. Soybean seed quality reductions by high day and night temperature. **Crop Science**, v.36, n.6, p.1615-1619, 1996.

GODOI, C.R.C. et al. Resistência a insetos em populações de soja com diferentes proporções gênicasde genitores resistentes. **Revista Agropecuária Tropical**, v.1, p.47-55, 2002.

GOLDBERG, R. B.;BARKER, S. J.; PEREZ-GRAU, L. . Regulation of gene expression during plant embryogenesis. **Cell**, v.56, n.2, p.149-160, 1989.

GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. 14 ed. Piracicaba: ESALQ, 2000. 477p.

HAJDUCH, M. et al.. A systematic proteomic study of seed filling in soybean. Establishment of high-resolution two-dimensional reference maps, expression profiles, and an interactive proteome database. **Plant physiology,** v. 137, n. 4, p. 1397-1419, 2005.

HE, L. et al. Welfare of farmed musk deer: changes in the biological characteristics of musk deer in farming environments. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 156, p. 1-5, 2014.

HENNING, A. A. **Patologia e tratamento de sementes: noções gerais**. 2.ed. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 52p. (Embrapa Soja. Documentos, 264)

HENNING, F. A. et al. Composição química e mobilização de reservas em sementes de soja de alto e baixo vigor. **Bragantia**, v. 69, n. 3, p. 727-733, 2010.

HOEKSTRA, H.; YEE, H.K.C.; GLADDERS, M. D. Measurement of the bias parameter from weak lensing. **The Astrophysical Journal Letters**, v. 558, n. 1, p. L11, 2001.

HUNDERTMARK, et al. The reduction of seed-specific dehydrins reduces seed longevity in Arabidopsis thaliana. **Seed Sci Res**, v.21, p.165–173, 2011.

HONG, T.D.; ELLIS, R.H. **A protocol to determine seed storage behaviour.** Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 1996. 55p. (Technical Bulletin, 1).

INTERNACIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. Seed vigour testing. In: International Rules for Seed Testing. Zurich: ISTA, p. 1-15, 2014.

JALINK, H. et al. Chlorophyll fluorescence of Brassica oleracea seeds as a non-destructive marker for seed maturity and seed performance. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 8, n. 4, p. 437-443, 1998.

JOOSEN, R. V. et al. Germinator: a software package for high-throughput scoring and curve fitting of Arabidopsis seed germination. **Plant Journal**, v.62, n.1, p.148-159, 2010.

KANTOLIC, A.G.; SLAFER, G.A. Photoperiod sensitivity after flowering and seed number determi.nation in indeterminate soybean cultivars. **Field Crops Res**, v.72, p.109–118, 200

KAZMIER, L. J. **Estatística aplicada à administração e economia**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2007. 392 p.

KIIHL, R.A.S.; A. GARCIA. **The use of the long juvenile trait in breeding soybean cultivars**.In: Conferencia Mundial de Investigacion en Soja, 4. Buenos Aires, Argentina. **Actas**. A.J. Pascale (ed.), v.4, p.994-1000, 1989.

KIMURA, S.; TOKUMARU, S.; KUGE, K. Mode of transmission and morphological structures of two *Eremothecium* species between *Riptortus pedestris* and soybean. **Journal of General Plant Patholog**, v.75, n.4, p.322-324, 2008.

Kew, R. B. G. The state of the world's plants report–2016. Royal Botanic Gardens, Kew, 2016.

KOCHANEK, J. et al. Pre-zygotic parental environment modulates seed longevity. **Austral Ecology**, v. 35, n. 7, p. 837-848, 2010.

KOCHANEK J. et al. Parental effects modulate seed longevity: exploring parental and offspring phenotypes to elucidate pre-zygotic environmental influences. **New Phytologist**, v.191, p.223–233, 2011.

KRANNER, I. et al. Glutathione half-cell reduction potential: a universal stress marker and modulator of programmed cell death. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 40, n. 12, p. 2155–2165, 2006.

KRZYZANOWSKI, F. C. Relationship between seed technology research and federal plant breeding programs. **Scientia Agricola**, v. 55, p. 83-87, 1998. Número especial.

KRZYZANOWSKI, F. C. et al. Evaluation of lignin content of soybean seed coat stored in a controlled environment. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 2, p. 220-223, 2008.

KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. B.; HENNING, A. A. A alta qualidade da semente de soja: fator importante para a produção da cultura. **Embrapa Soja-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2018.

LE, B.H.; et al. Using genomics to study legume seed development. **Plant physiology**, Rockville, v. 144, n. 2, p. 562-574, 2007.

LEITE, W. de S. **Seleção de genótipos de soja portadores ou não do gene RR por meio de análise multivariada e desempenho agronômico**. 2016. 66f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, Jaboticabal, 2016

LEPRINCE, O. et al. Late seed maturation: drying without dying. **Journal of Experimental Botany**, v.68, n.4, p.827-841. 2016.

LEPRINCE, O. et al. Late seed maturation: drying without dying. **Journal of experimental botany**, v.68, n.4, p.827-841, 2017.

LI, R. et al. Effects of cultivar and maternal environment on seed quality in Vicia sativa. **Frontiers in plant science**, v.8, 2017.1411 p.

LIMA, J. J. P. et al. Molecular characterization of the acquisition of longevity during seed maturation in soybean. **PloS one**, San Francisco, p.1-25, 2017.

LIN, H. et al. Seed metabolomic study reveals significant metabolite variations and correlations among different soybean cultivars. **Journal of integrative plant biology**, v.56, n.9, 826-836, 2014.

LIN, Q. et al. Genetic dissection of seed storability using two different populations with a same parent rice cultivar N22. **Breeding science**, v.65, n.5, p.411-419, 2015.

LINDEN, R. Técnicas de Agrupamento. **Revista de Sistemas de Informação da FSMA**. n. 4, p. 18-36. 2009.

LOURENÇÃO, A.L. et al. Avaliação de danos de percevejos e de desfolhadores em genótipos de soja de ciclos precoce, semiprecoce e médio. **Neotropical Entomology**, Vacaria, v. 31, p. 623-630, 2002.

MAIA, L. G. S. et al.. Variabilidade genética associada à germinação e vigor de sementes de linhagens de feijoeiro comum. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 2, p. 361-367, 2011.

MARTINS, C. C.; SILVA, N.; MACHADO, C. G. Testes para a seleção de populações de cenoura visando ao vigor e à longevidade das sementes. **Ciência Rural**, v. 44, n. 5, p. 768- 775, 2014.

MARTINS, C. C. et al. Metodologia para seleção de linhagens de soja visando germinação, vigor e emergência em campo. **Revista Ciência Agronômica,** v.47, n.3, p.455-461, 2016.

MARCOS-FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.) **Vigor de sementes:** conceitos e testes. Londrina: ABRATES, p.1-24, 1999.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2 ed. Londrina: Abrates, 2015. 660p.

McWILLIAMS, D. A.; BERGLUND, D. R.; ENDRES, G. J. Soybean Growth and Management. North Dakota State University, 1999.

MERTZ, L. M. et al. Diferenças estruturais entre tegumentos de sementes de soja com permeabilidade contrastante. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p. 23-29, 2009.

MIRANDA, M.A.C. et al. IAC 23 e IAC 24: cultivares de soja resistentes a insetos para o estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PALNTAS, 2001, Goiâni. **Anais**..., 2001. 12p.

MIRANDA, M.A.C.; LOURENÇÃO, A.L. Melhoramento genético da soja para a resistência a insetos: uma realidade para aumentar a eficiência do controle integrado de pragas e viabilizar a soja orgânica. In CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA E MERCOSOJA, 2002, Londrina. **Anais**... Londrina: Embrapa-Soja, p. 52-60.

MOITA NETO, J. M.; MOITA, G. C. An introduction analysis exploratory multivariate date. **Química Nova**, v. 21, n. 4, p. 467-469, 1998.

MORAES, R. M. A. et al. Caracterização bioquímica de linhagens de soja com alto teor de proteína. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 5, p. 725-729, 2006.

MORAES, L.M.F. et al. Redistribuição de molibdênio aplicado via foliar em diferentes épocas na cultura da soja. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.5, p.1496-1502, 2008.

MOREIRA, R. M. P. et al. Potencial agronômico e divergência genética entre genótipos de feijão-vagem de crescimento determinado. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, suplemento 1, p. 1051-1060, 2009.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, v. 1, p. 1-24, 1999.

NATARAJAN, S. S. et al. Proteomic analysis of common bean (Phaseolus vulgaris L.) by two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. **Journal of Basic and Applied Sciences**, v.9, p.424-437, 2013.

NCBI Resource Coordinators. **Database Resources of the National Center for Biotechnology Information**. Nucleic Acids Res. 2017; 45 :D12– D17.

NOAA (2016). NOAA Expands Critical Habitat for Endangered North Atlantic Right Whales. Available online at: http://www.greateratlantic.fisheries.noaa.gov/mediacenter/2016/january/25_noaa_expands_critical_habitat_for_endangered_north_atlantic_right_whales.htm

OLIVEIRA, S. S. C. et al. Seleção de progênies de nabo- forrageiro para germinação sob altas temperaturas. **Ciência Rural**, v. 44, n. 2, p. 217-222, 2014.

OECD/FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations, OECD-FAO Agricultural Outlook, OECD Publishing, Paris, 2015.

PALLAVI, M. et al. Character association for seed yield and seed longevity in soybean. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, v.7, n.3, p.3587-3590, 2018.

PANIZZI, A.R. Wild hosts of pentatomids: ecological significance and role in their pest status on crops. **Annual Review of Entomology**, v. 42, p. 99-122,1997.

PANIZZI, A.R.; SLANSKY JUNIOR, F. Review of phytophagous pentatomids (Hemiptera: Pentatomidae) associated with soybean in the Americas. **Florida Entomologist,** Gainesville, v. 68, n. 1, p.184-203, 1985.

PANIZZI, A.R. et al. Rearing the Southern green stink bug using an artificial dry diet and an artificial plant. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, p.1709-1715, 2000.

PERISSATO, S. M. **Interação genótipo ambiente na produtividade, qualidade fisiológica e incidência de sementes verdes em soja (Glycine max L.)**. 2019. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Agricultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2019.

PIEDADE, G. N. Principal Component Analysis for Identification of Superior Castor Bean Hybrids. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 9, 2019.

PINHEIRO, J.B. **Dialelo parcial entre parentais de soja resistentes e suscetíveis a insetos.** 1993. 143 p. Dissertação de mestrado (Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1993.

PITTA, R. M. et al. Seleção de Genótipos Resistentes de Amendoinzeiro a Anticarsia gemmatalis Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) com Base em Análises Multivariadas. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 39, n. 2, p. 474 260-265, 2010.

PIUBELLI, G. C. et al. Are Chemical Compounds Important for Soybean Resistance to Anticarsia gemmatalis?. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 7, p. 1509–1525, 2005.

PRIETRO-DAPENA, P. Improved resistance to controlled deterioration in transgenic seeds. **Plant physiology**, v.142, n.3, p.1102-1112, 2006.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos; PINTO, C. B. **Genética na agropecuária**. 5. ed. São Paulo: Globo, 1996.

RAO, K. V.; CHATTOPADHYAY, S. K.; REDDY, G. C. Flavonoids with mosquito larval toxicity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 6, p. 1427–1430, jun. 1990.

RAO, A.C.S. et al. Cultivar and climatic effects on the protein content of soft white winter wheat. **Agronomy Journal**, v.85, p.123-128, 1993.

RENCHER, A. C.; CHRISTENSEN, W. F. **Methods of Multivariate Analysis**. John Wiley & Sons, Inc.: Toronto, ON, Canada, 2002.

RIGHETTI, K. et al. Inference of Longevity-Related Genes from a Robust Coexpression Network of Seed Maturation Identifies Regulators Linking Seed Storability to Biotic Defense-Related Pathways. **Plant Cell,** 2015. 18p.

RITCHIE, S. W. et al**. How a soybean plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1994.20p.

ROSSI, R. F. **Towards understanding the influence of seed maturation on physiological seed quality in legumes**. 2016. 165p. Tese (Doutorado em Agronomia/Agricultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2016.

ROSSETTO, C.J. Breeding for resistance to stink bugs. **Proceedings**... **Anais**...Buenos Aires: 1989.

ROSSETO, C. J. et al. Mechanisms of resistance to stink bug complex in the soyabean. **Anais Socidedade Entomologia Brasileira**, v. 24, n. 3, p. 517–522, 1995.

SANHEWE, A. J.; ELLIS, R. H. Seed development and maturation in Phaseoous vulgaris II Post-harvest longevity in air dry storage. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.47, p.959-965, 1996.

SANO, N. et al. Staying alive: molecular aspects of seed longevity. **Plant and Cell Physiology**, v. 57, n. 4, p. 660-674, 2015.

SANO, N. et al. Staying Alive: Molecular aspects of seed longevity. **Plant Cell** Physiology, v. 57, n. 4, p. 660-674, 2016.

SATTLER S.E. et al. Vitamin E is essential for seed longevity and for preventing lipid peroxidation during germination. **Plant Cell**, v.16, p.1419–1432, 2004.

SECEX. Ministério da indústria, comércio exterior e serviços, 2018. http://www.mdic.gov.br/. Acesso em 14 de janeiro dez 2019.

SECEX. Ministério da indústria, comércio exterior e serviços, 2019. http://www.mdic.gov.br/. Acesso em 12 de janeiro de 2019.

SEDIYAMA, T. et al. **Cultura da Soja**, Parte I. UFV, Minas Gerais, 97p. 1993.

SCHUCH, L. O. B. et al. Vigor de sementes e adubação nitrogenada em aveia preta (Avena strigosa Schreb.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 2, p. 127-134, 1999.

SILVA, F. M. da. **Estratégias de condução de populações segregantes de soja portadoras do gene RR e seleção por meio de análises uni e multivariada.** 2015. 76 f. Tese (Doutorado em Agronomia/ Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, Jaboticabal, 2015.

SOUSA, L. B. et al. Desempenho produtivo de linhagens de soja em ensaio regional. **Revista Verde**, Mossoró, v.5, n.4, p.195-199, 2010.

SOUZA, L.C.F.et al. Teor de proteína e de óleo nos grãos de soja em função do tratamento de sementes e aplicação de micronutrientes. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n.06, p.1586-1593, 2009.

SUGLIANI, M. et al. Natural modifiers of seed longevity in the Arabidopsis mutants abscisic acid insensitive3-5 (abi3-5) and leafy cotyledon1-3 (lec1-3). **New Phytologist,** v.184, n.4, p.898-908, 2009.

SUTHERLAND, J. R.; DIEKMANN, M.; BERJAK, P. (eds.). **Forest tree seed health for germplasm conservation**. Rome, Italy: IPGRI, 2002. 85 p. (IPGRI technical bulletin, 6).

THOMAS, J. F.; RAPER, C. D. Photoperiodic Control of Seed Filling for Soybeans 1. **Crop Science**, v. 16, n. 5, p. 667-672, 1976.

THELEN, J. J.; OHLROGGE J. B. Metabolic engineering of fatty acid biosynthesis in plants. **Metab Eng**, v.4, p.12–21, 2002.

TRIPATHI, N.; KHARE, D. Molecular approaches for genetic improvement of seed quality and characterization of genetic diversity in soybean: a critical review. **Biotechnology letters**, v.38, n.10, p.1645-1654, 2016.

TRUMPER, E. V.; EDELSTEIN, J. D. **Chinches fitófagas en soja. Revisión y avances en el estudio de su ecología y manejo**. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Buenos Aires (Argentina). Estación Experimental Agropecuaria Manfredi, Córdoba (Argentina). Proyecto PICTO 12910, ANPCyT-INTA., 2008.

VASCONCELOS, E. S. et al. Estimativas de parâmetros genéticos da qualidade fisiológica de sementes de genótipos de soja produzidas em diferentes regiões de Minas Gerais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 1, p. 65-76, 2012.

VANDECASTEELE, C., et al. Quantitative trait loci analysis reveals a correlation between the ratio of sucrose/raffinose family oligosaccharides and seed vigour in Medicago truncatula. **Plant Cell Environ**, v.34, p.1473–1487, 2011.

VEIGA, R.F.A. et al. **Caracterização morfológica e agronômica do cultivar de soja IAC-100.** São Paulo: Instituto Agronômico de Campinas, 1999. 23 p.

VIANNA, V. F. et al. The multivariate approach and influence of characters in selecting superior soybean genotypes. **African Journal of Biotechnology**, Kenya, v. 8, p. 4162-4169, 2013.

VIDIGAL, S, D. et al. Galactinol as marker for seed longevity. **Plant Science**, v.246, p.112-118, 2016.

VILLAS BÔAS, G.L. et al. **Efeito de diferentes populações de percevejos sobre o rendimento e seus componentes, características agronômicas e qualidade de semente de soja.** Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1990. 43p.(EMBRAPA-CNPSo. Boletim de Pesquisa, 1).

VIVAN, L. M.; DEGRANDE, P. E. Pragas da soja. In: VIVAN, L. M., DEGRANDE, P. E. (ed.) **Boletim de Pesquisa de Soja**. Fundação MT,Rondonópolis, Brasil, cap.2, p. 239-297, 2011.

WALTERS, C., WHEELER, L.M., GROTENHUIS, J. M. Longevity of seeds stored in a genebank: species characteristics. **Seed Science Research**, v. 15, n.1, p. 1-20, 2005a.

WILCOX, J.R.; CAVINES, J.F. Normal and low lenolenic acid soybean strains. **Response to planting date**. Crop Science, v.32, p.1248-1251, 1992.

ZANAKIS, G.N.; ELLIS, R.H.; SUMMERFIELD, R.J. Seed quality in relation t o seed development and maturation in three genotypes of soybean (Glycine max). **Experimental Agriculture**, Oxford, v.30, p.139-156, 1994.

ZAR, J.H. **Biostatistical Analysis**, 3rd Edition. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, 1996. 662 p.

ZHAO, C. et al. Temperature increase reduces global yields of major crops in four independent estimates. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 114, n. 35, p. 9326-9331, 2017.

ZIEGLER, P. Carbohydrate degradation during germination. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination.** New York: Marcel Dekker, p.447-474, 1995.

ZINSMEISTER, J. et al. ABI5 is a regulator of seed maturation and longevity in legumes. **The Plant Cell Online**, v.28, n.11, p.2735-2754. 2016.

APÊNDICE A - Teor de água e avaliações de qualidade fisiológica de sementes de soja: PN (plântulas normais), P (protrusão), P50 e teor de óleo; para as 166 linhagens e os genótipos IAC-100 e CD-215.

Linhagens	Teor de Água	G %	P %	P50	Teor de óleo
1	9,5	41 e	56 d	1,3 l	20,18 d
2	9,5	78 b	99 a	52,4 a	18,12 g
3	9,9	94 a	97 a	64,7 a	17,57 h
4	9,6	34 e	48 d	0 m	19,69 e
5	9,9	80 b	97 a	49,9 a	17,68 h
6	10	48 d	80 b	24,5 e	18,88 f
7	9,5	62 c	93 a	32,5 c	19,45 e
8	9,6	27 f	91 b	49,5 a	20,51 c
9	9,8	36 e	86 b	30,8 d	19,58 e
10	9,4	32 e	83 b	29,4 d	20,68 c
11	9,9	61 c	93 a	42,2 b	17,68 h
12	9,6	13 g	57 d	1,7 k	21,2 b
13	9,7	29 e	89 b	29,4 d	19,64 e
14	10,3	64 c	98 a	52,9 a	17,77 h
15	9,2	25 f	85 b	23,2 e	21,36 b
16	9,7	1 h	43 e	0 m	21,22 b
17	10,3	74 c	94 a	50,4 a	18,06 g
18	9,7	42 e	78 c	19,6 e	21,7 a
19	9,7	40 e	84 b	22 e	19,34 e
20	10	69 c	89 b	41,7 b	18,52 f
21	9,5	75 c	87 b	43,3 b	19,48 e
22	9,6	68 c	87 b	35,5 c	18,59 f
23	9,4	36 e	85 b	33,3 c	21,09 b
24	9,8	87 a	98 a	66,9 a	18,07 g
25	9,8	71 c	83 b	32,5 c	19,96 d
26	9,9	68 c	95 a	54,1 a	16,61 i

27	9,3	57 c	87 b	37,6 c	17,79 h
28	9,3	33 e	72 c	29,7 d	20,77 c
29	10,1	82 b	91 a	36,6 c	18,16 g
30	10,2	26 f	65 c	12,2 g	20,15 d
31	9,9	82 b	94 a	41,6 b	19,12 e
32	10,2	50 d	90 b	31,2 d	19,35 e
33	10,2	80 b	95 a	33,1 c	19,18 e
34	9,8	47 d	79 c	23,2 e	18,33 g
35	10,1	71 c	92 a	52,7 a	18,62 f
36	9,6	30 e	89 b	35 c	20,14 d
37	10,1	71 c	93 a	40,1 b	19,69 e
38	9,7	37 e	83 b	28,3 d	19,42 e
39	9,7	73 c	86 b	34 c	20,07 d
40	9,8	75 c	93 a	53,3 a	18,93 f
41	9,9	82 b	93 a	43,3 b	17,25 h
42	9,8	78 b	97 a	38 c	17,47 h
43	9,9	62 c	75 c	21,7 e	19,64 e
44	10,1	84 b	88 b	39,6 b	16,05 i
45	9,8	78 b	95 a	49,3 a	18,49 f
46	10,1	80 b	90 b	38,7 b	17,75 h
47	9,6	48 d	59 c	7,9 i	20,49 c
48	10,2	81 b	87 b	33,8 c	19,44 e
49	10,2	91 a	97 a	47,9 a	18,64 f
50	9,9	32 e	39 e	0 m	20,72 c
51	9,7	77 b	91 a	31,6 d	19,82 d
52	9,2	59 c	86 b	35,9 c	20,53 c
53	9,6	47 d	92 a	34,4 c	20,4 c
54	9,6	41 e	70 c	25,3 e	18,87 f
55	9,6	50 d	44 e	0 m	20,57 c
56	9,6	62 c	86 b	35,9 c	19,99 d

57	9,5	69 c	89 b	41,2 b	17,2 h
58	9,8	19 g	46 d	0 m	17,7 h
59	9,6	48 d	71 c	31,4 d	19,95 d
60	9,9	69 c	82 b	36,1 c	18,01 g
61	9,5	37 e	76 c	27,6 d	19,41 e
62	10,3	50 d	83 b	34,6 c	19,1 e
63	9,5	18 g	65 c	17,1 f	18,33 g
64	9,6	64 c	89 b	37,4 c	18,69 f
65	9,2	69 c	72 c	25,3 e	20,49 c
66	9,3	54 d	75 c	20 e	18,04 g
67	9,2	61 c	80 b	35,2 c	20,99 b
68	9,7	75 c	93 a	44 b	18,83 f
69	9,5	88 a	93 a	39,6 b	20,25 d
70	9,8	80 b	88 b	36,3 c	19,71 e
71	9,7	55 d	94 a	42,5 b	20,04 d
72	9,7	14 g	49 d	0 m	20,63 c
73	9,6	94 a	88 b	45,8 a	20,16 d
74	9,5	61 c	88 b	31,5 d	20,31 c
75	9,6	36 e	60 c	16,1 f	18,13 g
76	9,7	79 b	100 a	53,7 a	16,61 i
77	9,5	50 d	63 c	33,2 c	20,25 d
78	9,7	73 c	83 b	32,4 c	17,65 h
79	9,4	47 d	60 c	29,2 d	20,63 c
80	9,4	82 b	96 a	53,4 a	20,89 c
81	9,6	71 c	66 c	31,4 d	18,18 g
82	9,4	77 b	86 b	42,8 b	20,82 c
83	9,3	59 c	70 c	28,7 d	21,06 b
84	9,6	82 b	95 a	48,2 a	19,53 e
85	9,4	32 e	49 d	0 m	20,82 c
86	9,6	33 e	35 e	0 m	20,05 d

87	9,8	71 c	79 b	39,5 b	18,19 g
88	9,5	65 c	78 c	36 c	18,83 f
89	9,5	23 f	38 e	0 m	18,49 f
90	9,6	74 c	91 a	38,7 b	17,47 h
91	9,6	71 c	97 a	42,3 b	18,51 f
92	9,7	78 b	90 b	46,2 a	17,69 h
93	9,9	54,5 d	76 c	40,9 b	17,28 h
94	9,8	71 c	95 a	46,2 a	20,45 c
95	9,8	55 d	71 c	25,6 e	17,67 h
96	10,2	34 e	67 c	25,3 e	17,99 g
97	9,5	41 e	71 c	14,8 g	19,56 e
98	9,3	20 f	66 c	21,5 e	21,03 b
99	9,9	50 d	87 b	39,2 b	18,61 f
100	10,1	79 b	97 a	47,1 a	19,88 d
101	9,8	50 d	73 c	31,3 d	21,13 b
102	9,9	59 c	83 b	35,5 c	18,05 g
103	9,6	91 a	98 a	55,7 a	19,94 d
104	9,8	68 c	88 b	46,4 a	18 g
105	9,4	33 e	53 d	5,2 j	20,75 c
106	9,9	91 a	95 a	52,6 a	18,69 f
107	9,7	42 e	69 c	23,9 e	19,76 d
108	9,6	67 c	91 b	41,3 b	18,22 g
109	9,6	42 e	67 c	10,9 h	20,69 c
110	9,6	76 c	96 a	46,2 a	20,09 d
111	9,5	74 c	99 a	52,5 a	17,53 h
112	9,4	46 d	68 c	19,7 f	20,37 c
113	10,1	80 b	98 a	58,3 a	18,14 g
114	9,3	64 c	98 a	59,1 a	18,63 f
115	9,5	58 c	83 b	45,3 a	18,16 g
116	9,2	89 a	81 b	42,5 b	19,6 e

117	9,2	85 b	94 a	51,1 a	19,67 e
118	9,1	36 e	65 c	12,6 g	19,66 e
119	9,1	66 c	66 c	30,7 d	18,47 f
120	9,1	60 c	73 c	36,6 c	17,97 g
121	9,1	63 c	66 c	14,6 g	20,09 d
122	9,1	68 c	75 c	39 b	18,6 f
123	9,1	90 a	93 a	43,2 b	17,96 g
124	8,9	68 c	80 b	25,6 e	19,13 e
125	9,3	77 b	94 a	42,9 b	19,8 d
126	9,8	42 e	49 d	0 m	20,4 c
127	9	22 f	38 e	0 m	21,32 b
128	9,7	53 d	71 c	25,9 e	19,64 e
129	9,5	78 b	95 a	43,1 b	21,13 b
130	9,2	69 c	85 b	36,6 c	20,22 d
131	9,3	92 a	97 a	52,6 a	19,34 e
132	9,1	16 g	44 e	0 m	18,26 g
133	9,1	46 d	74 c	24,7 e	19,04 f
134	9,2	63 c	77 c	39,3 b	19,9 d
135	9	92 a	88 a	60,8 a	19,71 e
136	9,2	84 b	84 b	37,4 c	20,09 d
137	9,1	40 e	75 c	22,6 e	20,6 c
138	9,2	32 e	80 b	26,4 e	20,79 c
139	9,2	55 d	90 b	34,9 c	17,62 h
140	9,3	72 c	87 b	53,9 a	17,32 h
141	9,6	86 a	95 a	52,2 a	16,45 i
142	9,2	63 c	85 b	36,9 c	18,57 f
143	9,2	97 a	100 a	63,7 a	16,53 i
144	9,1	84 b	98 a	50,9 a	18,59 f
145	9,2	66 c	92 b	49,1 a	19,96 d
146	9,5	82 b	91 b	50,1 a	17,09 h

147	9,2	80 b	98 a	54,6 a	18,83 f
148	9,1	67 c	86 b	29,6 d	19,91 d
149	9	83 b	90 b	45,1 a	19,53 e
150	9,1	73 c	87 b	47,6 a	20,45 c
151	9,1	51 d	75 c	30,4 d	19,31 e
152	9,1	18 g	61 c	24,7 e	19,29 e
153	9,2	85 b	98 a	54,9 a	18,46 f
154	9,2	68 c	81 b	36,6 c	18,47 f
155	9,1	88 a	94 a	45,6 a	17,85 g
156	9,8	81 b	94 a	35,3 c	17,71 h
157	9	60 c	92 b	28 d	20,52 c
158	9,2	65 c	86 b	31,8 d	18,62 f
159	9,3	81 b	86 b	38,8 b	19,44 e
160	9,4	89 a	97 a	39,2 b	18,94 f
161	9	65 c	82 b	31 d	17,55 h
162	9	73 c	89 b	43,6 b	18,91 f
163	9,3	45 d	64 c	24,1 e	21,97 a
164	9,6	90 a	98 a	51,4 a	16,26 i
165	9,1	97 a	98 a	51,7 a	20,99 b
166	9,1	88 a	93 a	57,2 a	19 f
167	9,6	77 b	91 a	53,7 a	14,93 j
168	9,5	65 c	75 c	37,2 d	18,8 f

*Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade.A

APÊNDICE B - Avaliações de qualidade fisiológica de sementes de soja: PC (primeira contagem), COMP.PA (comprimento de parte área), COMP.RAIZ (comprimento de raiz), MMS.PA (massa de matéria seca de parte aérea), MMS.RAIZ (massa de matéria seca de raiz), T50; para as 166 linhagens e os genótipos IAC-100 e CD-215.

Linhagens	PC %	CPA	CRAIZ	MMSPA	MMSRAIZ	T50
1	38 e	2,06 f	2,69 e	0,07 g	0,02 c	46,9 c
2	57 d	8,51 b	10,77 b	0,18 e	0,03 c	39,3 d
3	91 a	10,18 a	14,18 a	0,17 e	0,05 c	42,2 d
4	30 f	4,22 d	4,61 c	0,1 f	0,03 c	0 f
5	64 c	8,83 b	12,4 a	0,22 d	0,06 c	40,6 d
6	35 e	8,05 b	11,49 b	0,25 c	0,06 c	50,7 c
7	41 e	12 a	14,05 a	0,3 c	0,06 c	38,3 d
8	0 h	11,45 a	14,87 a	0,22 d	0,04 c	41,7 d
9	0 h	12,05 a	12,91 a	0,27 c	0,05 c	34,7 e
10	15 g	7,88 b	11,01 b	0,17 e	0,05 c	37,7 d
11	36 e	12,85 a	14,49 a	0,31 c	0,08 c	36,3 e
12	8 g	7,73 b	10,04 b	0,18 e	0,04 c	47,9 c
13	19 f	9,7 b	11,98 a	0,22 d	0,07 c	44,7 c
14	36 e	11,65 a	14,51 a	0,34 b	0,1 c	36 e
15	3 h	7,79 b	10,2 b	0,19 d	0,06 c	50,5 c
16	0 h	1,93 f	2,49 e	0,07 g	0,01 c	0 f
17	61 c	10,25 a	12,03 a	0,2 d	0,08 c	35,7 e
18	35 e	8,06 b	7,8 b	0,24 d	0,04 c	45,6 c
19	31 f	6,56 b	6,26 c	0,15 e	0,03 c	40,5 d
20	62 c	10,16 a	8,96 b	0,22 d	0,05 c	42,6 d
21	72 b	12,82 a	11,61 a	0,32 c	0,06 c	45,1 c
22	50 d	8,47 b	10,14 b	0,21 d	0,04 c	42,3 d
23	28 f	6,71 b	9,23 b	0,2 d	0,05 c	50 c
24	81 a	9,87 a	12,13 a	0,2 d	0,05 c	40,5 d
25	65 c	7,65 b	8,77 b	0,26 c	0,04 c	47,1 c

26	55 d	11,25 a	13,85 a	0,28 c	0,13 c	45,2 c
27	54 d	7,05 b	11,09 b	0,22 d	0,05 c	45,9 c
28	29 f	8,91 b	10,34 b	0,22 d	0,05 c	50 c
29	70 b	11,87 a	14,84 a	0,26 c	0,08 c	37,1 e
30	24 f	3,78 d	4,74 c	0,11 f	0,02 c	45,2 c
31	71 b	11,77 a	12,23 a	0,28 c	0,1 c	35,5 e
32	21 f	7,67 b	11,6 a	0,18 e	0,04 c	50,3 c
33	76 b	10,67 a	10,71 b	0,22 d	0,06 c	29,3 e
34	39 e	5,5 c	6,07 c	0,24 d	0,06 c	40,3 d
35	55 d	12,06 a	11,52 a	0,12 f	0,04 c	31,8 e
36	4 h	9,28 b	11,24 b	0,24 d	0,07 c	32,4 e
37	59 c	8,44 b	7,09 c	0,18 e	0,05 c	34,5 e
38	37 e	13 a	12,16 a	0,2 d	0,04 c	45,7 c
39	64 c	8,3 b	9,96 b	0,16 e	0,04 c	49,1 c
40	66 c	12,33 a	15,54 a	0,19 e	0,05 c	49 c
41	55 d	13,24 a	17,35 a	0,23 d	0,09 c	46,2 c
42	68 c	13 a	12,16 a	0,24 d	0,09 c	41,4 d
43	38 e	8,55 b	8,64 b	0,41 a	0,18 b	59,2 a
44	78 b	13,01 a	12 a	0,2 d	0,06 c	48,6 c
45	71 b	13,29 a	14,73 a	0,41 a	0,17 b	56,2 b
46	80 a	17,52 a	12,53 a	0,31 c	0,06 c	49,3 c
47	37 e	8,29 b	8,2 b	0,28 c	0,05 c	59,8 a
48	77 b	13,92 a	14 a	0,18 e	0,06 c	49,4 c
49	90 a	13,96 a	15,47 a	0,26 c	0,06 c	36,8 e
50	32 e	4,89 d	6,24 c	0,38 a	0,08 c	0 f
51	65 c	10,79 a	11,39 a	0,16 e	0,04 c	42 d
52	53 d	11,35 a	13,93 a	0,25 c	0,04 c	45,3 c
53	42 e	7,84 b	9,88 b	0,22 d	0,06 c	46,9 c
54	30 f	8,43 b	7,99 b	0,04 g	0,17 b	54,1 b
55	39 e	6,53 c	6,89 c	0,13 f	0,1 c	0 f

56	62 c	7,48 b	10,46 b	0,04 g	0,13 c	51 c
57	68 c	12,24 a	13,11 a	0,09 f	0,13 c	50,9 c
58	19 f	2,87 e	2,39 e	0,06 g	0,25 a	0 f
59	44 e	8,39 b	9,74 b	0 g	0,08 c	44,9 c
60	67 c	9,9 a	13,44 a	0,06 g	0,23 a	48 c
61	37 e	5,72 c	5,89 c	0,03 g	0,17 b	44,2 d
62	50 d	6,32 c	10,46 b	0,06 g	0,2 b	50,4 c
63	18 f	3,46 e	5,01 d	0,05 g	0,12 c	42,9 d
64	64 c	12,92 a	13,48 a	0,04 g	0,11 c	41,3 d
65	50 d	9,66 b	10,06 b	0,07 g	0,05 c	43,2 d
66	37 e	6,32 c	7,74 c	0,05 g	0,22 b	43,5 d
67	60 c	8,68 b	11,72 a	0,03 g	0,14 b	38,5 d
68	73 b	11,59 a	12,33 a	0,06 g	0,24 a	34,2 e
69	83 a	9,65 b	9,62 b	0,05 g	0,27 a	33,1 e
70	73 b	10,49 a	13,56 a	0,05 g	0,2 b	45,5 c
71	48 d	9,97 a	10,16 b	0,08 f	0,26 a	42,4 d
72	11 g	2,39 f	1,91 e	0,05 g	0,19 b	0 f
73	81 a	10,32 a	7,07 c	0,03 g	0,08 c	35 e
74	57 d	7,36 b	7,35 c	0,04 g	0,27 a	43,3 d
75	31 f	3,77 d	3,62 d	0,04 g	0,08 c	50,8 c
76	75 b	7,61 b	9,53 b	0,01 g	0,09 c	35,5 e
77	44 e	4,45 d	5,42 c	0,04 g	0,18 b	54,9 b
78	71 b	8,2 b	7,92 b	0,04 g	0,12 c	46,9 c
79	43 e	4,64 d	4,52 d	0,06 g	0,26 a	55,7 b
80	69 b	15,42 a	15,52 a	0,03 g	0,1 c	54,2 b
81	69 b	7,65 b	7,93 b	0,06 g	0,23 a	57,5 b
82	66 c	11,72 a	12 a	0,03 g	0,18 b	49,8 c
83	49 d	8,07 b	9,23 b	0,23 d	0,05 c	54,2 b
84	71 b	12,34 a	12,46 a	0,22 d	0,04 c	49,7 c
85	23 f	8,53 b	7,31 c	0,29 c	0,05 c	0 f

86	33 e	4,26 d	5,42 c	0,2 d	0,04 c	0 f
87	70 b	10,95 a	11,65 a	0,14 e	0,03 c	51,2 c
88	65 c	10,01 a	10,5 b	0,22 d	0,05 c	50,1 c
89	23 f	2,36 f	2,83 e	0,25 c	0,06 c	0 f
90	74 b	10,85 a	12,91 a	0,07 g	0,03 c	42,9 d
91	67 c	13,11 a	13,16 a	0,27 c	0,06 c	54,9 b
92	73 b	13,39 a	14,22 a	0,31 c	0,07 c	54,6 b
93	51 d	7,31 b	6,53 c	0,29 c	0,08 c	45,1 c
94	58 d	11,12 a	12,1 a	0,15 e	0,04 c	38,6 d
95	53 d	8,79 b	10,73 b	0,21 d	0,04 c	50,8 c
96	31 f	8,76 b	13,38 a	0,21 d	0,05 c	68,2 a
97	38 e	5,33 c	5,96 c	0,26 c	0,07 c	63,5 a
98	20 f	4,55 d	4,52 d	0,14 e	0,03 c	56,7 b
99	46 e	11,57 a	12,78 a	0,1 f	0,02 c	39,9 d
100	75 b	12,29 a	12,5 a	0,2 d	0,05 c	47,2 c
101	47 d	7,28 b	8,59 b	0,22 d	0,07 c	48,1 c
102	53 d	8,63 b	10,54 b	0,13 f	0,06 c	59,6 a
103	82 a	14,64 a	13,49 a	0,18 e	0,05 c	41,7 d
104	57 d	9,42 b	12,53 a	0,32 c	0,08 c	43,7 d
105	30 f	5,75 c	6,39 c	0,24 d	7,56 c	74,9 a
106	80 a	13,04 a	13,7 a	0,13 f	0,04 c	39,7 d
107	31 f	7,07 b	10,07 b	0,27 c	0,08 c	56,4 b
108	65 c	9 b	10,94 b	0,18 e	0,04 c	43 d
109	39 e	7,75 b	9,37 b	0,18 e	0,05 c	61,1 a
110	76 b	7,35 b	10,35 b	0,2 d	0,06 c	32,6 e
111	74 b	7,22 b	11,12 b	0,16 e	0,06 c	46,3 c
112	38 e	5,97 c	8,48 b	0,03 g	0,12 c	58,2 b
113	79 b	12,33 a	13,5 a	0,06 g	0,17 b	34,3 e
114	60 c	9,96 b	12,34 a	0,02 g	0,07 c	38,4 d
115	51 d	9,7 a	10,91 b	0,01 g	0,04 c	41,2 d

116	79 b	10,66 a	13,69 a	0,05 g	0,24 a	50 c
117	81 a	13,74 a	14,67 a	0,06 g	0,27 a	32,4 e
118	31 f	7,53 b	8,08 b	0,06 g	0,23 a	53,7 b
119	56 d	8,45 b	9,71 b	0,03 g	0,2 b	50,2 c
120	57 d	7,83 b	11,06 b	0,05 g	0,16 b	56,7 b
121	55 d	7,67 b	10,33 b	0,03 g	0,19 b	53,4 b
122	60 c	10,22 a	10,29 b	0,07 g	0,22 a	52,3 c
123	84 a	13 a	17,53 a	0,08 f	0,38 a	35,8 e
124	55 d	11,9 a	13,57 a	0,06 g	0,24 a	52,7 b
125	66 c	8,93 b	11,19 b	0,06 g	0,16 b	54,4 b
126	27 f	5,66 c	5,84 c	0,02 g	0,1 c	0 f
127	22 f	3,37 e	4,31 d	0,01 g	0,09 c	0 f
128	49 d	5,31 c	6,04 c	0,05 g	0,13 c	65,9 a
129	73 b	10,09 a	10,33 b	0,04 g	0,19 b	60,4 a
130	67 c	10,15 a	11,73 a	0,03 g	0,16 b	46,4 c
131	79 b	11,66 a	13,91 a	0,04 g	0,23 a	39,7 d
132	11 g	3,15 e	4,11 d	0,03 g	0,08 c	0 f
133	34 e	6,09 c	7,98 c	0,05 g	0,11 c	43,9 d
134	52 d	8,97 b	12,3 a	0,04 g	0,21 b	48,4 c
135	87 a	14,15 a	18,54 a	0,11 f	0,29 a	40,3 d
136	80 a	11,05 a	12,52 a	0,07 g	0,21 b	38,7 d
137	27 f	10,36 a	10,47 b	0,06 g	0,19 b	38 d
138	26 f	6,29 c	9,29 b	0,05 g	0,22 b	37,1 e
139	51 d	7,25 b	12,45 a	0,06 g	0,14 b	41,8 d
140	61 c	10,4 a	11,03 b	0,06 g	0,23 a	45,1 c
141	82 a	10,88 a	11,65 b	0,29 c	0,06 c	39,4 d
142	55 d	7,69 b	4,95 c	0,23 d	0,03 c	38,1 d
143	87 a	10,87 a	9,12 b	0,22 d	0,04 c	34,8 e
144	71 b	7,69 b	6,13 c	0,15 e	0,03 c	48,5 c
145	60 c	5,88 d	8,14 b	0,16 e	0,05 c	40,2 d

146	74 b	11,36 a	12,59 a	0,28 c	0,06 c	45,7 c
147	66 c	10,21 a	10,13 b	0,17 e	0,03 c	37 e
148	56 d	8,21 b	6,99 c	0,2 d	0,03 c	43,2 d
149	76 b	11,02 a	9,89 b	0,23 d	0,05 c	38,7 d
150	68 c	9,21 b	8,21 b	0,21 d	0,05 c	46,2 c
151	39 e	7,45 b	6,56 c	0,22 d	0,07 c	49,9 c
152	10 g	3,85 d	3,44 d	0,11 f	0,04 c	39,5 d
153	83 a	14,39 a	12,49 a	0,23 d	0,05 c	31,1 e
154	50 d	8,56 b	8,37 b	0,23 d	0,06 c	42,1 d
155	83 a	9,93 a	10,67 b	0,21 d	0,04 c	29,3 e
156	78 b	13,04 a	13,28 a	0,34 b	0,06 c	40,4 d
157	59 c	8,11 b	6,02 c	0,21 d	0,03 c	46 c
158	61 c	9,22 b	9,82 b	0,24 d	0,06 c	48,3 c
159	73 b	12,84 a	14,73 a	0,28 c	0,05 c	35,4 e
160	87 a	10,61 a	11,5 a	0,23 d	0,04 c	36,5 e
161	56 d	6,82 b	8,24 b	0,16 e	0,05 c	48,8 c
162	52 d	8,94 b	10,41 b	0,23 d	0,05 c	46,3 c
163	40 e	5,52 c	5,3 c	0,16 e	0,03 c	62,1 a
164	89 a	9,44 b	9,87 b	0,19 d	0,05 c	37,6 e
165	95 a	12,09 a	10,71 b	0,31 c	0,07 c	40,8 d
166	84 a	8,69 b	6,7 c	0,22 d	0,04 c	52,9 b
167	50 e	9,04 b	9,45 b	0,12 f	0,03 c	35,6 e
168	43 d	5,04 c	6,52 c	0,18 e	0,03 c	45,5 c

*Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Scott & Knott à 5% de probabilidade.