

## RESULTADOS DE PESQUISA DA EMBRAPA SOJA - 2001

### Ecofisiologia e Biologia Molecular



Resultados de pesquisa da  
2002 FL-11781



40680-1





**República Federativa do Brasil**

**Fernando Henrique Cardoso**  
*Presidente*

**Ministério da Agricultura e do Abastecimento**

**Marcus Vinicius Pratini de Moraes**  
*Ministro*

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**

**Conselho de Administração**

**Márcio Fontes de Almeida**  
*Presidente*

**Alberto Duque Portugal**  
*Vice-Presidente*

**Dietrich Gerhard Quast**

**José Honório Accarini**

**Sérgio Fausto**

**Urbano Campos Ribeiral**  
*membros*

**Diretoria-Executiva da Embrapa**

**Alberto Duque Portugal**  
*Diretor-Presidente*

**Dante Daniel Giacomelli Scolari**

**Bonifacio Hideyuki Nakasu**

**José Roberto Rodrigues Peres**

*Diretores-Executivos*

**Embrapa Soja**

**Caio Vidor**

*Chefe-Geral*

**José Renato Bouças Farias**

*Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento*

**Alexandre José Cattelan**

*Chefe Adjunto de Comunicação e Negócios*

**Vania Beatriz Rodrigues Castiglioni**

*Chefe Adjunto de Administração*

**Exemplares desta publicação podem ser solicitadas a:**

Área de Negócios Tecnológicos da Embrapa Soja

Caixa Postal 231 - Distrito de Warta

86001-970 - Londrina, PR

Telefone 43 3371-6000 Fax 43 3371-6100

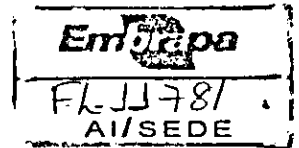
As informações contidas neste documento somente poderão ser reproduzidas com a autorização expressa do Comitê de Publicações da Embrapa Soja

**Embrapa**

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Centro Nacional de Pesquisa de Soja  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

ISSN 1516-781X

Dezembro, 2002



# **Documentos 198**

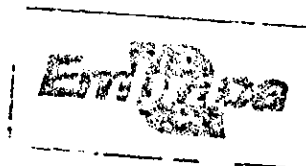
## **RESULTADOS DE PESQUISA DA EMBRAPA SOJA - 2001**

### **Ecofisiologia e Biologia Molecular**

**Organizado por:**

Clara Beatriz Hoffmann-Campo  
Embrapa Soja

Odilon Ferreira Saraiva  
Embrapa Soja



Londrina, PR  
2002

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Soja**

Rodovia Carlos João Strass - Distrito de Warta

Caixa Postal, 231 - CEP: 86001-970

Fone: (43) 3371 6000

Fax: (43) 3371 6100

<http://www.cnpso.embrapa.br>

E-mail: [sac@cnpso.embrapa.br](mailto:sac@cnpso.embrapa.br)

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: *José Renato Bouças Farias*

Secretária-Executiva: *Clara Beatriz Hoffmann Campo*

Membros: *Alvaro Manuel Rodrigues de Almeida*

*Ivan Carlos Corso*

*José de Barros França Neto*

*José Francisco Ferraz de Toledo*

*Léo Pires Ferreira*

*Norman Neumaier*

*Odilon Ferreira Saraiva*

Supervisor editorial: *Odilon Ferreira Saraiva*

Normalização bibliográfica: *Ademir B. Alves de Lima*

Editoração eletrônica: *Helvio Borini Zemuner*

**1ª edição**

1ª impressão (12/2002): tiragem 400 exemplares

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

---

Resultados de pesquisa da Embrapa Soja - 2001:  
ecofisiologia e biologia molecular / organizado por Clara  
Beatriz Hoffmann-Campo, Odilon Ferreira Saraiva. -  
Londrina: Embrapa Soja, 2002.  
46p. ; 25,5cm. - (Documentos / Embrapa Soja, ISSN  
1516-781X; n.198)

1. Soja-Ecofisiologia-Brasil. 2. Soja-Biologia molecular.  
I. Hoffmann-Campo, Clara Beatriz (Org). II. Saraiva, Odilon  
Ferreira (Org). III. Título. IV. Série.

CDD 633.340981

# APRESENTAÇÃO

*Na publicação anual dos Resultados de Pesquisa da Embrapa Soja, os pesquisadores desta instituição relatam os principais avanços obtidos em seus projetos de pesquisa e de transferência de tecnologia em soja, girassol e trigo. Muitos desses resultados não são conclusivos e não têm como objetivo a recomendação de tecnologias, mas registrar nossa memória técnica e informar pesquisadores, professores e assistência técnica, sobre o andamento das pesquisas, durante apenas uma safra. Sendo assim, a utilização das informações, contidas nesta publicação, por parte da assistência técnica, deve ser feita com cuidado. As tecnologias prontas para serem utilizadas no campo são discutidas em reuniões específicas e repassadas para a assistência técnica e produtores rurais, como Sistemas de Produção ou outras publicações da Série Documentos ou Circular Técnica. As de caráter emergencial, são divulgadas na forma de Comunicado Técnico, enquanto os resultados de interesse para a comunidade científica são publicados em revistas periódicas especializadas, de alcance nacional ou internacional.*

*Para facilitar o manuseio, a publicação foi dividida em nove volumes, contemplando os resultados dos projetos de uma área específica de conhecimento ou áreas correlatas. O presente volume apresenta os resultados obtidos em 2001, pelas equipes de Ecofisiologia e Biologia Molecular.*

**José Renato Bouças Farias**  
Chefe de Pesquisa e Desenvolvimento  
Embrapa Soja



# SUMÁRIO

1. MAXIMIZAÇÃO DO APROVEITAMENTO DAS DISPONIBILIDADES CLIMÁTICAS PELA SOJA .....	07
1.1. Bases agronômicas e fisiológicas das respostas da soja à disponibilidade hídrica (04.2000.331-01) .....	08
1.2. Bases agronômicas e fisiológicas das respostas da soja às condições térmicas e fotoperiódicas (04.2000.331-02) .....	12
1.3. Identificação, clonagem e seqüenciamento de genes diferencialmente expressos em respostas às variações climáticas em soja (04.2000.331-03) .....	20
1.4. Estratégias para amenizar impactos decorrentes das adversidades climáticas (04.2000.331-05) .....	23
1.5. Modelos de simulação do desenvolvimento da cultura da soja em resposta às variáveis do ambiente (04.2000.331-06) .....	24
2. GENÉTICA APLICADA AO MELHORAMENTO DA SOJA .....	29
2.1. Identificação de marcadores moleculares ligados a genes de resistência a doenças (04.2000.322-01) .....	30
2.2. Estudo da diversidade genética de patógenos de soja (04.2000.322-02) .....	34
2.3. Caracterização do germoplasma ativo de soja com marcadores moleculares AFLP e microssatélites (04.2000.322-03) .....	36
2.4. Genética quantitativa aplicada ao melhoramento da soja: diversidade genética e resistência a doenças (04.2000.322-04) .....	37
2.5. Transformação de plantas de soja por biobalística com genes de interesse (04.2000.322-05) .....	40
3. ZONEAMENTO DE RISCO CLIMÁTICO NO BRASIL .....	43
3.1. Caracterização de aptidão climática de regiões para o cultivo de soja no Brasil (01.2000.051-03) .....	43





# MAXIMIZAÇÃO DO APROVEITAMENTO DAS DISPONIBILIDADES CLIMÁTICAS PELA SOJA

# 1

Nº do projeto: (04.2000.331)

Líder: Alexandre Lima Nepomuceno

Nº de subprojetos que compõem o projeto: 06

Unidades / instituições participantes: Embrapa Soja, Embrapa Trigo, Jircas  
Japan International Research Center for Agricultural Science

Segundo a Associação Brasileira de Industrias de Óleos Vegetais (ABIOVE), as exportações de grãos, farelo e óleo de soja contribuíram na balança comercial brasileira com U\$ 4.5, U\$ 3.77, U\$ 4.2, U\$ 5,3 bilhões nos anos de 1998, 1999, 2000 e 2001 respectivamente, e para este ano de 2002 estima-se que chegue a U\$ 5,7. Não tão facilmente mensurável, a contribuição indireta da cultura da soja na movimentação da economia brasileira, seja pela geração de empregos, ou seja, pela adição de valor à soja industrializada por industrias brasileiras, é de vital importância para o desenvolvimento do país. Entretanto, como a maioria dos produtos agrícolas a cultura da soja esta sujeita as variáveis climáticas e pouco ou quase nada se tem para apresentar como solução ao produtor, sem que haja um aumento do custo de produção. O objetivo principal do projeto 04.2000.331 é o de buscar novas informações no sentido de otimizar o cultivo e de reduzir os riscos de prejuízos aos quais a cultura da soja está sujeita.

Os seis subprojetos componentes do projeto *Maximização do aproveitamento das disponibilidades climáticas pela soja* analisam o problema como um todo. Nos subprojetos 04.2000.331-01 e 02, as respostas de diversos genótipos de soja aos fatores do clima serão avaliados objetivando identificar as diferenças entres estes genótipos e quais os melhores parâmetros a serem utilizados neste tipo de estudo. As informações obtidas nestes dois subprojetos visam fornecer bases para a tomada de decisão por parte de melhoristas, assistência técnica e produtores no que diz respeito à escolha de genótipos menos sensíveis. Estas informações também serão essenciais na condução dos subprojetos 04.2000.331-03 e 06. No subprojeto 03, os genótipos identificados como sensíveis e tolerantes à seca são analisados ao nível de expressão gênica. Objetiva-se com isso identificar e clonar genes envolvidos em mecanismos fisiológicos de resposta aos fatores ambientais. Estrategicamente é imprescindível que o Brasil se mantenha competitivo nesta área uma vez que genes envolvidos em vários processos fisiológicos estão sendo identificados e patenteados, e serão alvos da cobrança de royalties no futuro. O enfoque sistêmico viabilizado pelo uso de modelos de simulação de crescimento e de desenvolvimento da soja permite integrar os efeitos de diferentes condições edafoclimáticas sobre o comportamento da cultura, criando ferramentas eficazes para suporte à tomada de decisões e a estudos complementares. Entretanto, modelos de simulação só se tornam viáveis após calibração. Assim sendo, o subprojeto 06 utiliza as variáveis estudadas nos subprojetos 01 e 02 para calibrar modelos de simulação (e.g. CROPGRO, SARRA) objetivando a obtenção de

modelos de simulação (e.g. CROPGRO, SARRA) objetivando a obtenção de modelos precisos e confiáveis que expressem de forma satisfatória a realidade.

Finalmente, no subprojeto 04.2000.331-04 busca-se maximizar o uso dos recursos do ambiente, através da alteração de práticas de manejo (e.g. densidade, espaçamento), uma vez que muitas destas práticas não foram testadas e desenvolvidas para os genótipos utilizados hoje. Enquanto que, no subprojeto 04.2000.331-05 objetiva-se testar novas estratégias no combate as perdas devido as adversidades climáticas. Uma série de produtos tem sido desenvolvidos, testados e introduzidos no mercado agrícola dizendo basear seu modo de ação na alteração de processos fisiológicos e bioquímicos no sentido de ativar os mecanismos de defesa das plantas. Neste subprojeto, então, são testadas a eficiência e a viabilidade de utilização destes produtos ao nível de lavoura.

A busca de soluções para outras demandas e prioridades de pesquisa também poderão ser beneficiadas pelos conhecimentos e/ou tecnologias a serem geradas pelo presente projeto. Dentre essas pode-se destacar o manejo do solo, da cultura, de pragas e doenças, sistemas de produção e rotação de culturas, assim como, estudos econômicos e estratégicos.

### **1.1. Bases agronômicas e fisiológicas das respostas da soja à disponibilidade hídrica (04.2000.331-01)**

Norman Neumaier<sup>1</sup>, Alexandre L. Nepomuceno<sup>1</sup>, José Renato Bouças Farias<sup>1</sup>, Tetsuji Oya<sup>2</sup>, Alexandre José Cattelan<sup>1</sup>, Nelson Delattre<sup>1</sup>

A variabilidade na ocorrência de adversidades climáticas é o maior fator de risco e de insucesso na exploração da cultura da soja. As secas (71% dos casos) são o principal evento sinistrante no PROAGRO, seguido por chuva excessiva (22% dos casos), granizo e geadas (dados de 1993). Apesar dos enormes prejuízos advindos da ocorrência de

secas, pouco ou quase nada se tem para apresentar como solução ao produtor, sem aumentar seu custo de produção. Por isso, buscaram-se novas informações no sentido de otimizar o cultivo da soja, possibilitando a obtenção de maiores rendimentos e menores riscos.

A avaliação da tolerância de genótipos ao *déficit* hídrico tem sido feita, de forma indireta, através da avaliação final do rendimento de grãos ou de algumas outras características agronômicas. Para o processo de seleção, no melhoramento de plantas, o estabelecimento de parâmetros que permitam avaliação direta da capacidade da planta em tolerar a seca, é de grande interesse. A resistência estomática, a taxa fotossintética, o teor relativo de água na folha, o número de estômatos, a translocação de fotoassimi-

<sup>1</sup> Embrapa Soja

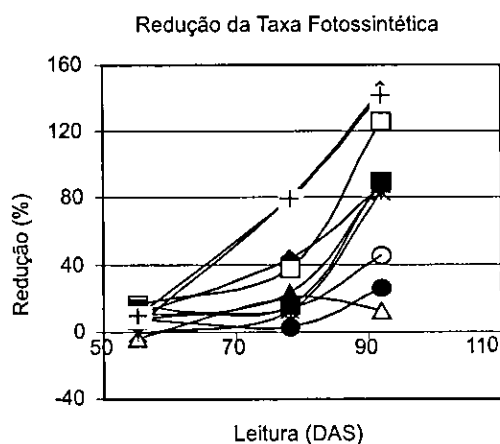
<sup>2</sup> Convênio JIRCAS/Embrapa Soja

lados, a osmoregulação, etc., podem vir a ser ferramentas úteis na diferenciação de genótipos mais tolerantes a períodos de deficiência hídrica. O objetivo deste estudo foi caracterizar as respostas agrônômicas e/ou fisiológicas das principais cultivares de soja da Embrapa em resposta a *déficits* hídricos, em distintas fases do desenvolvimento. Dessa forma, buscam-se identificar características que conferem aos genótipos maior tolerância ou sensibilidade à seca, visando gerar conhecimento básico e subsídios aos programas de melhoramento genético e ao setor produtivo, contribuindo para a redução dos riscos climáticos e dos prejuízos decorrentes dos *déficits* hídricos.

No segundo ano do estudo (2001), foram instalados dois ensaios a campo. Foram avaliadas respostas fenológicas, morfológicas, agrônômicas e fisiológicas de dez cultivares de soja. Num dos ensaios, em delineamento de blocos completos casualizados com parcelas subdivididas, os tratamentos foram (nas parcelas) níveis de disponibilidade hídrica: 1) irrigado (potencial matricial de água, no solo, mantido entre 0,03 e 0,05 MPa, com irrigações manuais); 2) não irrigado; nas subparcelas, as cultivares BR 16 e 37, Embrapa 48 e 59, e BRS 132, 133, 134, 183, 184 e 185. Num outro experimento complementar foram testadas as mesmas dez cultivares sob abrigos móveis automáticos e sem suprimento de água (estressado), por 38 dias, a partir do florescimento (R2). Os resultados desse segundo ano de ensaios mostram que, possivelmente, por 2001 ter sido um ano sem muitos *déficits*

hídricos, a diferença no rendimento, entre os tratamentos irrigado e não irrigado, foi pequena (2,6%) e não significativa. A ausência do suprimento de água após o florescimento (tratamento estressado) causou redução média de 45% no rendimento. A cultivar menos produtiva, em qualquer das condições (irrigada, não irrigada, estressada) foi a BR 16. A mais produtiva, na média dos tratamentos irrigado/não irrigado foi a 'BRS 184'. No experimento complementar com o tratamento estressado, as cultivares mais produtivas foram 'BRS 183' e 'BRS 184' que reduziram seus rendimentos em cerca de 22% e 38%, respectivamente, quando comparados aos seus rendimentos obtidos na condição irrigada. As menos produtivas, sob *déficits*, foram 'BR 16', Embrapa 58' e 'BRS 134' que reduziram seus rendimentos em cerca de 52%, 58% e 64%, respectivamente.

Pelo segundo ano consecutivo, a taxa fotossintética mostrou-se muito sensível ao *déficit* hídrico. Sua redução média no tratamento estressado foi de cerca de 83%, quando comparado com o tratamento irrigado. Nos tratamentos irrigado e não irrigado, as taxas fotossintéticas medidas no decorrer do ciclo da cultura mantiveram-se em torno de suas médias, entretanto para o tratamento estressado, os valores da taxa fotossintética decresceram à medida que o *déficit* se prolongava. Apenas três cultivares apresentaram reduções menores que 50%, e foram 'Embrapa 48', 'BRS 132' e 'BRS 133' (Fig. 1). A resistência estomática seguiu um padrão inverso ao da taxa fotossintética.



**Fig. 1.1.** Redução percentual da taxa fotossintética (A) de dez cultivares de soja submetidas a *déficit* hídrico durante o período reprodutivo (estressado), em comparação com o tratamento irrigado, na safra 2000/2001, em Londrina, PR. Embrapa Soja. 2002.

(TRAF), aos 90 dias após a semeadura (DAS), foi drasticamente reduzido, no tratamento estressado, para a cultivar BRS 184. Algumas cultivares, como a BR 37 Embrapa 59, BRS 134 e BRS 185 mantiveram seus TRAF em níveis altos, mesmo sob *déficit* hídrico. Isso, não aconteceu com a cultivar BRS 184, cujo TRAF decresceu drasticamente com o *déficit* hídrico. As cultivares BR 16, BRS 133 e BRS 183 apresentaram baixos TRAFs em ambas as condições hídricas. O TRAF é uma característica fisiológica importante na avaliação do estado hídrico da planta. Sob condições normais de demanda evaporativa da atmosfera (DEA), valores de TRAF próximos de 90%-95% indicam que a planta está bem

suprida de água. Esse bom suprimento pode estar relacionado a um sistema radicular profundo e eficiente ou simplesmente a mecanismos de economia de água na parte aérea da planta (Fig. 1.2).

A área foliar máxima (AFMax), medida entre 47 e 75 DAS, não diferiu entre os tratamentos irrigado e não irrigado, mas teve redução, em média, de 59% no tratamento estressado, quando comparada à AFmax obtida no tratamento irrigado. Os índices de área foliar (IAF) médios estimados a partir da AF máxima, para os tratamentos foram irrigado, 3,5; não irrigado, 3,4; e estressado, 1,7. Assim, o *déficit* hídrico aplicado reduziu o IAF em 54%, ou seja, para um nível muito abaixo daquele considerado ótimo para a soja (IAF de quatro a cinco). Nos tratamentos irrigado e não irrigado, o IAF médio estimado esteve muito próximo do ótimo.

O número de vagens por planta também seguiu a mesma tendência, isto é, na média das cultivares, o tratamento estressado reduziu em 29% esse componente do rendimento, quando comparado com o tratamento irrigado. Tanto sob condições hídricas ótimas como sob *déficit* hídrico durante o período reprodutivo, a cultivar Embrapa 48 produziu maior número de vagens por planta do que 'BR 16'. Sob estresse, essa vantagem da Embrapa 48 foi bem maior (158,6%) do que sob condições ótimas (58,5%), indicando, pelo menos nessa característica, maior habilidade da 'Embrapa 48' em tolerar *déficit* hídrico no período reprodutivo.

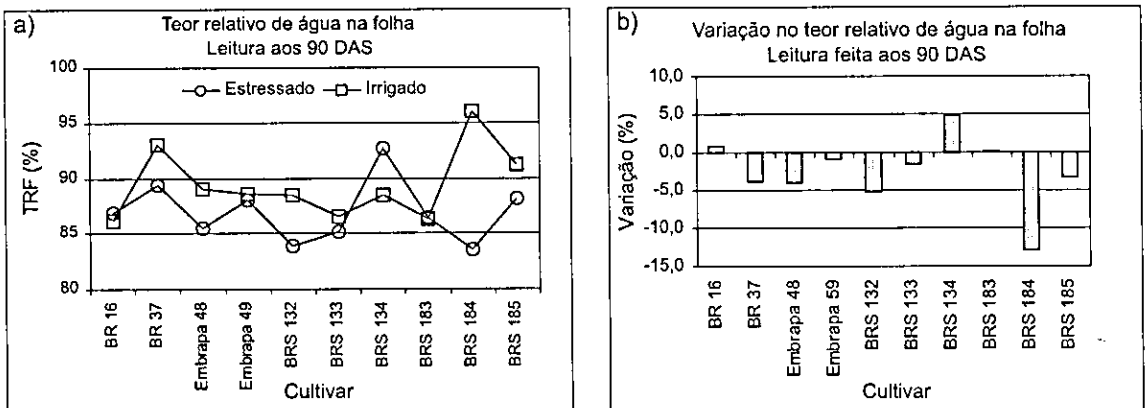
O número de grãos por vagem (NGV), no tratamento estressado, foi reduzido,

O número de grãos por vagem (NGV), no tratamento estressado, foi reduzido, em média, apenas 3,4% quando comparado com o tratamento irrigado. As cultivares que mais reduziram o NGV, em resposta ao *déficit* hídrico, foram 'BRS 134', 'Embrapa 59', 'Embrapa 48', 'BRS 183' e 'BR 16'. No tratamento estressado, a 'BR 37' apresentou NGV significativamente maior do que 'Embrapa 48', 'BRS 184', 'BRS 134' e 'BR 16'.

O tamanho do grão (peso de 100 grãos) apresentou redução de 2% a 17% quando as plantas foram submetidas ao *déficit* hídrico. As cultivares com reduções maiores que 10% foram BRS 185, BRS 134, BRS 183, BRS 133 e BR 16. Esses resultados indicam que o peso de

100 grãos, apesar de ser uma característica genética definida entre limites estreitos, em cada cultivar, é um componente do rendimento que ainda apresenta uma razoável flexibilidade para ajustar os rendimentos em função das condições ambientais, de estresse ou não, ocorridas durante o período reprodutivo da cultura.

Os resultados aqui relatados são oriundos de subprojeto parcialmente financiado pelo CNPq e contaram com o apoio técnico e financeiro do JIRCAS. Esses resultados são de um ano de experimentos apenas e, portanto, preliminares. Por esse motivo, recomenda-se cautela na interpretação e no uso dos mesmos.



**Fig. 1.2.** Teor relativo de água na folha (TRAF) (a) e variação percentual em relação à média do TRAF (b) de dez cultivares de soja submetidas a *déficit* hídrico durante o período reprodutivo (estressado), em comparação com o tratamento irrigado, na safra 2000/2001, em Londrina, PR. Embrapa Soja. 2002.



## 1.2. Bases agronômicas e fisiológicas das respostas da soja às condições térmicas e fotoperiódicas (04.2000.331-02).

Norman Neumaier<sup>1</sup>, Alexandre L. Nepomuceno<sup>1</sup>,  
José Renato B. Farias<sup>1</sup>, Tetsuji Oya<sup>2</sup>,  
Nelson Delattre<sup>1</sup> Cesar Augusto Ortiz<sup>3</sup>

As diferenças entre as produtividades reais e as potenciais são devido, principalmente, à influência do ambiente. Assim, o aumento da produtividade para níveis próximos do potencial, pode ser buscado através da maximização do uso das disponibilidades ambientais pela soja. A temperatura e o comprimento do dia (fotoperíodo) constituem importantes sinais do ambiente capazes de sensibilizar as plantas provocando respostas moleculares, fisiológicas e agronômicas das mesmas. A caracterização das respostas ao ambiente e o entendimento dos mecanismos envolvidos são a chave para a maximização do uso das disponibilidades climáticas por genótipos de soja. Deficiência hídrica, a maior responsável pela diminuição das produtividades, está sendo estudada em outro subprojeto (04.2000.331-01). O objetivo geral do presente subprojeto é caracterizar as respostas agronômicas e fisiológicas da soja às condições térmicas, fotoperiódicas e de radiação luminosa, buscando entender os mecanismos envolvidos nestas respostas. Com esse entendimento, pode-se: melhor compreender o florescimento tardio da soja sob dias curtos, determinar as reais causas do

tombamento fisiológico e caracterizar o desenvolvimento da soja sob condições de baixa radiação luminosa que normalmente acompanha as condições de excesso de chuva. Espera-se ampliar o conhecimento para subsidiar o desenvolvimento de cultivares melhor adaptadas às condições específicas de ambientes-alvo, restritos ou não, e para o atendimento de demandas pontuais de agricultores, assistência técnica pública e privada, departamentos comerciais de cooperativas, órgãos ou empresas de securitização agrícola, etc.

Durante o segundo ano do subprojeto (2001), os esforços foram concentrados no estudo das respostas da soja à radiação solar, às altas temperatura da superfície do solo e aos efeitos da chuva sobre a fotossíntese. Dois experimentos foram executados, a campo, um em Londrina (Embrapa Soja) e outro em Guarapuava (FAPA, Entre-Rios), visando caracterizar a resposta da soja a diferentes níveis de radiação solar, durante o período reprodutivo. Em ambos os experimentos, foram usadas coberturas de sombrite sobre as parcelas para a obtenção dos diferentes níveis de radiação solar (radiação fotossinteticamente ativa, RFA). No experimento de Londrina, foram testados dois níveis de dois fatores, em blocos ao acaso, com quatro repetições. Os fatores e níveis constaram de: 1) radiação solar (a) testemunha (100% da RFA) e (b) 45% da RFA, por 22 dias durante o enchimento dos grãos (R5) e 2) cultivar (a) Embrapa 48 e (b) Embrapa 59. O experimento foi semeado em 22/11/2000 e colhido em 21/03/2000. Durante o desenvolvimen-

<sup>1</sup> Embrapa Soja

<sup>2</sup> Convênio JIRCAS/Embrapa Soja

<sup>3</sup> Bolsista Embrapa Soja

to do experimento foram efetuadas avaliações fenológicas, fisiológicas e agrônômicas.

Em Londrina, em 2001, a taxa de assimilação de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ), medida na segunda folha completamente desenvolvida, e aos níveis de radiação fotossinteticamente ativa (RFA), não mostrou diferenças significativas entre as cultivares testadas, porém, nas parcelas que receberam o tratamento 45%RFA, durante os 22 dias em R5, tanto  $A$ , na leitura de 21/2, quanto RFA, nas leituras de 21/2 e 28/2, tiveram reduções estatisticamente significativas. As diferenças foram mais visíveis em baixas radiações, pois, nas altas radiações há tendência de saturação de luz. A eficiência fotossintética ( $F_v/F_m$  = rendimento quântico da fotossíntese líquida) das cultivares foi a mesma, em todas as datas de leitura, exceto em uma delas na

qual a 'Embrapa 48' apresentou maior eficiência.  $F_v/F_m$  foi significativamente maior no tratamento de 45%RFA nas duas leituras feitas durante a aplicação do tratamento, mas, na última data de leitura, ocorrida na última leitura, portanto, após a extinção do tratamento 45%RFA, a eficiência fotossintética foi maior nas plantas submetidas ao tratamento 100%RFA. O teor de clorofila das cultivares, estimado pelo índice SPAD, foi semelhante na primeira e nas três últimas datas de amostragem mas, da segunda à quinta leitura, foi maior na cultivar Embrapa 48 do que na 'Embrapa 59' (Fig. 1.3a). O tratamento 45%RFA apresentou, em todas as datas de leitura, índice SPAD maior do que o do tratamento 100%RFA (Fig. 1.3b). Essa resposta é uma típica adaptação da planta submetida a intensidades subótimas de luminosidade.

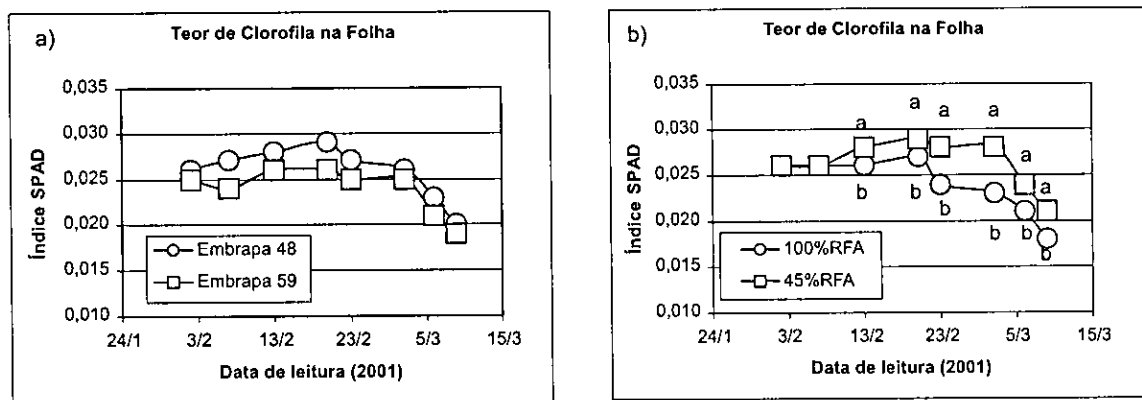


Fig. 1.3. Evolução do teor de clorofila na folha (índice SPAD) em: a) 'Embrapa 48' e 'Embrapa 59' e b) nos tratamentos 100%RFA e 45%RFA, este aplicado durante 22 dias, em R5 (de 8/2 a 2/3/2001 = barra no eixo X), na safra 2000/2001. Letras diferentes, na vertical, indicam diferença significativa (Tukey,  $P < 0,05$ ). Embrapa Soja, Londrina, PR, 2002.

A resistência estomática (RS) da segunda folha completamente desenvolvida aumentou de forma drástica ao longo das datas de leitura, indicando, provavelmente o envelhecimento da lâmina foliar. Na última data de leitura, a 'Embrapa 48' apresentou RS significativamente menor do que a 'Embrapa 59'. RS não foi influenciada pelos tratamentos de RFA, exceto, na terceira data de leitura, que coincidiu com o primeiro dia do tratamento 45%RFA, onde o mesmo mostrou maior RS do que 100%RFA. Essa, também, é uma típica resposta à redução drástica da luminosidade, mas que não perdurou nas leituras seguintes, indicando uma adaptação dos estômatos à nova condição de menor RFA.

Os tratamentos não influenciaram a altura final de plantas nem o número de nós no caule, que foram, em média, 49 cm e 12 nós. As cultivares apresentaram diferenças significativas em uma série de características agrônômicas (Tabela 1.1). Na média das radiações, a cultivar Embrapa 48 produziu maior número de

vagens/planta (com e sem grãos), bem como maior MS de caule/planta. A 'Embrapa 59' apresentou maior número de grãos/vagem. As cultivares não diferiram, entre si, nas seguintes características: número de grãos/planta; massa seca (MS) de vagens com grãos/planta; MS de grãos/planta e ICA [=MS de grãos/(MS de grãos + MS de caule)].

Em contraste com o experimento do ano anterior, não houve diferenças significativas entre os tratamentos de radiação (100%RFA e 45%RFA por 22 dias, em R5) nas características acima citadas, exceto para ICA. Houve tendência ( $P=0,053$ ) do número de vagens vazias/planta ser maior no tratamento 45%RFA.

Possivelmente, a restrição da RFA, em R5, deve ter causado menor disponibilidade de fotoassimilados e, conseqüentemente, maior abortamento de grãos. O ICA, medido numa amostra de dez plantas em R8, diferiu significativamente entre os tratamentos de RFA. O trata-

**Tabela 1.1.** Características agrônômicas das cultivares de soja Embrapa 48 e Embrapa 59, na média de dois níveis de radiação, medidas em amostra de 10 plantas colhidas em R8 no experimento de Londrina, na safra 2000/2001. Embrapa Soja, Londrina, PR, 2002.

Cultivar	Número				Massa Seca (g.)			
	Vagens cheias/pl	Grãos/planta	Grãos/vagem	Vagens vazias/pl	Vagens Cheias/pl	Grãos/planta	Caules/planta	ICA-índice colheita apar.
Embrapa 48	49,9 a	77,8 a	1,54 b	3,9 a	13,9 a	8,4 a	5,1 a	0,64 a
Embrapa 59	31,3 b	56,3 a	1,84 a	1,8 b	10,7 a	6,7 a	3,7 b	0,62 a
CV (%)	32,0	32,4	6,1	52,4	32,7	33,0	28,0	6,6

Mesma letra na coluna indica diferença não significativa (Tukey,  $P<0,05$ ).



mento sem restrição de radiação (100%RFA) apresentou ICA de 0,65, portanto, maior do que o ICA de 0,60 apresentado pelo tratamento 45%RFA. A área foliar (AF) foi medida em 10/01, 07/02, 21/02, 13/03 e 21/03 e em nenhuma data houve diferença significativa entre cultivares ou tratamentos de RFA, exceto na penúltima amostragem, onde plantas sob o tratamento 45%RFA apresentaram AF maior do que sob 100%RFA. Esse resultado pode ser uma indicação de que a restrição de RFA em R5, imposta pelo tratamento 45%RFA, estimulou um crescimento tardio de área foliar.

Não houve diferença significativa, tanto entre cultivares quanto entre tratamentos na MS de raiz/planta, medida em 10/01, 07/02 e 21/01/01, apesar de ter havido tendência da 'Embrapa 48' apresentar maior MS de raiz/planta do que a 'Embrapa 59'. No entanto, a MS de nódulos que foi maior, na segunda data de amostragem, para o tratamento 45%RFA, decresceu drasticamente, a partir do início do tratamento, ou seja, da segunda para a terceira amostragem, enquanto que, nesse período, no tratamento 100%RFA, apresentou leve crescimento.

Os dados referentes à resposta dos componentes do rendimento à baixa disponibilidade de RFA, em R5, em contraste com o experimento do ano passado, em Londrina, não demonstraram de forma clara os efeitos das baixas intensidades dessa radiação, na diminuição dos rendimentos. Não houve diferença significativa, no rendimento, entre as cultivares testadas. Entretanto, a

redução em 55% na RFA, por 22 dias, durante o enchimento dos grãos, causou significativa diminuição de 21% do rendimento (Fig. 1.4), repetindo a redução observada no ano passado (22%). Assim, ficou consubstanciado que intensidades subótimas de RFA durante o enchimento dos grãos afetam negativamente o rendimento da soja, confirmando que a disponibilidade de altas intensidades de RFA, nessa fase, é essencial para garantir altos rendimentos. O enchimento dos grãos constitui a última etapa da formação do rendimento e, nessa fase, a demanda por produtos da fotossíntese é máxima. Por isso, nesse período, limitações como baixa RFA podem afetar negativamente a fotossíntese e outros mecanismos fisiológicos e, conseqüentemente, o rendimento.

No experimento de Guarapuava, o delineamento experimental foi blocos completos casualizados com parcelas subdivididas e três repetições. Nas parcelas, foram testados três níveis de RFA (100%RFA; 70%RFA e 45%RFA) e, nas subparcelas, quatro genótipos (Embrapa 59; BRS154: OC142573 e OC127837). O experimento foi semeado em 06/12/2000 e colhido no mês 04/2001. A cobertura (sombrite) foi montada a 1,50 m da superfície do solo. Durante o desenvolvimento do experimento foram efetuadas avaliações fenológicas, fisiológicas e agrônômicas.

Em Guarapuava, exceto para eficiência fotossintética, todas as características relacionadas com a fotossíntese, (radiação fotossinteticamente ativa -

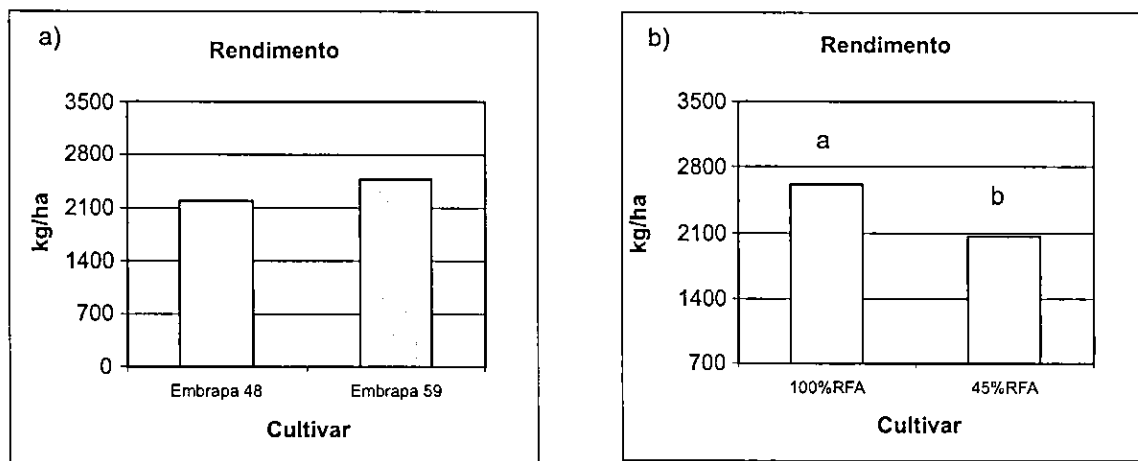


Fig. 1.4. Rendimento (kg/ha) de grãos, observado em a) 'Embrapa 48' e 'Embrapa 59' e b) nos tratamentos 100%RFA e 45%RFA, este aplicado durante 22 dias, em R5 (de 8/2 a 2/3/2001), na safra 2000/2001. Letras diferentes indicam diferença significativa (Tukey,  $P < 0,05$ ). Embrapa Soja, Londrina, PR, 2002.

RFA, taxa de assimilação de  $\text{CO}_2$  - A, resistência estomática RS, teor de clorofila - SPAD), medidas em 25 e 26/03/01, na segunda folha completamente desenvolvida, não mostraram diferenças significativas, entre os genótipos e entre os tratamentos de 100%RFA, 70%RFA e 45%RFA, esses dois últimos aplicados por 38 dias, a partir do florescimento pleno, e durante o enchimento dos grãos (de 15/02 a 25/03/01). A falta de resposta deveu-se, provavelmente, às avaliações tardias, feitas após a extinção dos tratamentos de restrição de RFA. Caso as avaliações tivessem sido feitas durante a aplicação dos tratamentos de restrição de RFA, muito possivelmente, haveria diferenças significativas, entre esses tratamentos, para as características fisiológicas relacionadas à fotossíntese. No entanto,

a cultivar Embrapa 59 apresentou eficiência fotossintética significativamente maior do que OC127837.

Não houve diferença significativa entre níveis de radiação para MS de folhas em R1, R5 e R6, mas houve entre genótipos, nesses três estádios. Em R1, o genótipo OC127837 apresentou maior massa seca de folhas do que OC142573. Em R5, nos genótipos OC142573 e 'Embrapa 59', a MS de folhas foi maior do que em OC127837 e BRS 154. Em R6, OC142573 teve maior MS de folhas do que 'BRS 154'. Entre os níveis de radiação, não houve diferença significativa para MS de caules, em nenhum dos estádios. Também, não houve diferença significativa entre genótipos para massa seca de caules, exceto para Embrapa 59 e OC142573, em R1, que apresentaram menor MS de caules do que OC127837.

Em R8, houve interação significativa radiação x genótipo para MS do caule, onde, em 70%RFA, o genótipo OC142573 apresentou maior MS de caule do que os genótipos OC127837 e Embrapa 59. A MS total em R1, variou apenas entre genótipos, com OC127837, mostrando maior MS total do que OC142573 e 'Embrapa 59'. Nos demais estádios (R5, R6 e R8), apenas os tratamentos de restrição de RFA causaram diminuição significativa na MS total, portanto, não houve diferença entre os genótipos. Em R8, no entanto, houve efeito de interação radiação x genótipo para essa característica, onde, sob 70%RFA, OC142573 mostrou maior MS total do que OC127837 e Embrapa 59.

Apenas os genótipos apresentaram diferenças significativas com relação à DFC. O índice de DFC foi significativamente menor na 'BRS 154', comparado aos demais genótipos. A incidência de oídio em 45%RFA foi dependente de genótipo. Essa mesma resposta foi observada para o ano de 1999/2000, os quais indicaram que níveis subótimos de RFA favorecem o aparecimento das DFC, mas essa resposta é dependente do genótipo.

Não houve influência do nível de RFA na duração dos períodos vegetativo, reprodutivo e ciclo total, entretanto, os genótipos apresentaram algumas pequenas diferenças. 'Embrapa 59' apresentou menor período reprodutivo do que os demais genótipos, tanto em valor absoluto quanto relativo ao ciclo total.

Os níveis de RFA e os genótipos apresentaram diferenças significativas na altura de plantas, apenas no floresci-

mento (R1). Foram observadas diferenças significativas para o crescimento pós-florescimento (CPF) entre RFAs e entre os genótipos, com 100%RFA, 70%RFA e 'Embrapa 59' apresentando maior CPF do que 45%RFA e, 'BRS 154 e OC127837, respectivamente. O índice de acamamento diferiu entre os níveis de RFA e entre os genótipos. Nos níveis de 45%RFA e de 70%RFA, o acamamento foi significativamente maior ao observado no nível de 100%RFA. Entre os genótipos, 'Embrapa 59' e OC127837 apresentaram acamamento maior que OC142537 e BRS 154.

O rendimento foi significativamente reduzido com a diminuição da disponibilidade de RFA, o mesmo acontecendo com o ICA, indicando que, em condições de radiação restrita, o particionamento relativo de fotoassimilados aos grãos é menor do que em condições não restritivas. Ao contrário do acontecido no ano anterior (1999/2000), não houve diferença significativa entre os genótipos. A redução no rendimento, causada pelo nível mais baixo de radiação (45%RFA), foi de 40%, enquanto que para 70%RFA a redução foi de cerca de 15%. Esses resultados praticamente repetem os resultados do ano anterior e indicam que lavouras de soja localizadas em regiões com níveis subótimos de RFA podem estar tendo seus rendimentos limitados pela radiação solar subótima. Além disso, mostraram que, em um dos anos (1999/2000), existiu variabilidade genética para adaptabilidade a regiões com menores níveis de radiação, o que possibilitaria o melhoramento genético de genótipos adaptados a esses ambien-

tes-alvo específicos, mas não no ano seguinte (2000/2001) apontando para respostas diferenciadas dos genótipos em função do ano.

Os rendimentos em Londrina, na média dos anos, foram superiores aos de Guarapuava. Nos experimentos de Londrina, apenas as cultivares Embrapa 48 e Embrapa 59 foram testadas, enquanto que em Guarapuava o experimento foi executado utilizando outros genótipos. Os solos, em ambos os locais, são considerados de alta fertilidade. Três grandes diferenças, entre os locais, são temperatura, precipitação atmosférica e radiação solar, durante a safra de soja. Os dados de chuva acumulada durante as safras de soja mostram que, em Guarapuava, chove bem mais que em Londrina. Com isso, a radiação solar acumulada é menor em Guarapuava. Também, as temperaturas médias são menores em Guarapuava, indicando que as temperaturas noturnas também são menores. Em Entre-Rios, local do experimento, as temperaturas noturnas chegam atingir valores menores que 15 C (informação pessoal, Eng. Agr. Celso Wobeto - FAPA). Assim, os rendimentos menores em Guarapuava podem estar sendo determinados pelas características climáticas citadas, atuando isoladas ou conjuntamente, sobre as cultivares. Esses resultados, ainda preliminares, indicam que, muito provavelmente, será possível, através do melhoramento genético, desenvolver cultivares melhor adaptadas às condições específicas da região.

Para a determinação das temperaturas que causam o tombamento fisiológi-

co de plântulas de soja, também conhecido como cancro de calor, foi desenvolvida metodologia específica, com a construção de um equipamento que simula a temperatura da superfície do solo através de resistências elétricas controladas por termostatos digitais. A cada 2-3 dias, 60 sementes da cultivar de soja BRS 133 foram colocadas para germinar em rolos de papel Germitest, umedecidos com água destilada, mantidos em câmara BOD, a 25C, no escuro por quatro a cinco dias. Plântulas germinadas, sadias e de tamanho uniforme foram transplantadas para suportes sobre bandejas plásticas com solução nutritiva Hoagland completa, em casa-de-vegetação. Tratamentos de 35, 40, 45, 50 e 55C foram aplicados ao colo de plântulas, nos estádios VC e V2, em dois experimentos, respectivamente. Em outro experimento, o colo de plântulas nos estádios VE, VC, V1, V2 e V3 foram submetidos ao tratamento de 50C. Simulando as temperaturas na superfície do solo, as resistências foram colocadas em contato com o colo das plântulas e o tempo para o aparecimento de lesões (escaldadura) e/ou o tombamento foi anotado, assim como o número de plântulas com lesões no colo e/ou tombadas. Cada experimento constou de quatro repetições e teve a duração de três horas. Para o cálculo das médias de tempo, quando não houve o aparecimento de lesão e/ou tombamento, foi considerado o tempo máximo do experimento, ou seja, 180 minutos.

Tanto nas plântulas em VC como em V2, as lesões e o tombamento apareceram em tempos menores com o aumento das temperaturas e, todas as temperatu-

ras, exceto 35C, em VC, causaram lesões no colo. Nas plântulas em VC, apenas as temperaturas igual ou superiores a 45C causaram tombamento e, nas plântulas em V2, o tombamento ocorreu somente nas temperaturas de 50 e 55C.

Em outro experimento, todos os estádios (VE a V3), a 50C, apresentaram lesões no colo e tombamento, porém apenas 25% das plântulas em V2 e V3 tombaram.

Os resultados indicam que, para plântulas de soja nos estádios VC e V2, as temperaturas, na superfície do solo, de 45 e de 50C, respectivamente, ou superiores, causam tombamento fisiológico e plântulas em VC, VE e V1 são mais sensíveis do que em V2 e V3.

Foi executado um experimento, em casa-de-vegetação, para investigar se a soja responde, da mesma forma que o

feijão, à chuva (Ishibashi et al., Plant Physiol 111:635-640, 1996). O experimento foi semeado na segunda semana de janeiro, em blocos casualizados com parcelas subdivididas, com os tratamentos (com e sem chuva) na parcela e cultivares na subparcela. Os vasos (subparcelas) continham duas plantas cada e foram irrigados por gotejamento. No início de R5, em 14/03/2001, foi feita leitura de fotossíntese (**A**) no folíolo central da segunda folha completamente desenvolvida das duas plantas de cada vaso. No dia seguinte (15/03), os vasos do tratamento Com Chuva receberam 24 horas de chuva artificial (aspersão). No dia seguinte (16/03) à aplicação do tratamento de chuva artificial e aos sete dias após a aplicação deste, foram feitas novas leituras de **A** em todos os vasos. Os resultados indicam que, para uma mesma RFA, houve diminuição significativa de **A**,

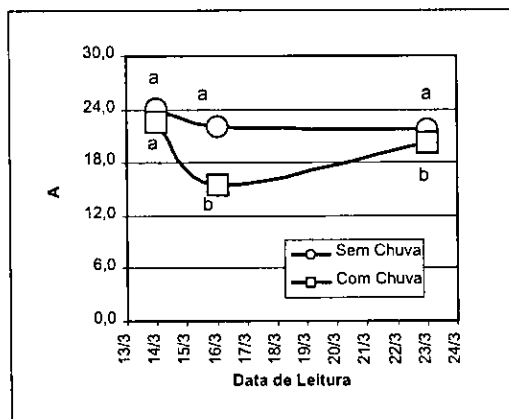
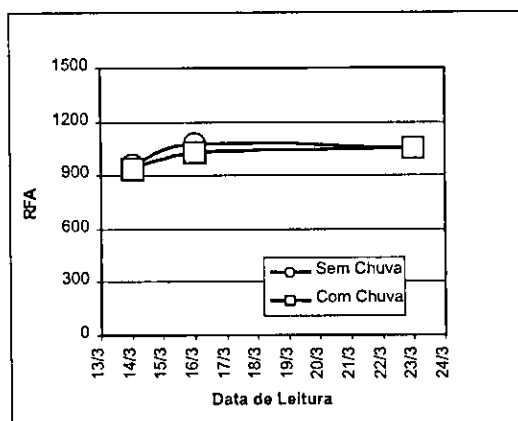


Fig. 1.5. (a) Radiação fotossinteticamente ativa e (b) taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> (**A**), em três datas, uma antes e duas depois de 24h de chuva (média de oito cultivares). Ausência de letras ou letras iguais na vertical denotam diferenças não significativas (Tukey, P < 0,05). Embrapa Soja, Londrina, PR, 2002.

imediatamente após, e, aos sete dias depois da chuva (Fig. 1.5). A taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> (A) diminuiu 29,4% no dia seguinte ao tratamento de 24h de chuva e, mesmo aos sete dias após a chuva, A ainda estava 7% menor nas plantas que receberam 24h de chuva. Duas cultivares, BR 16 e Campos Gerais não apresentaram diferenças significativas, em A (medidas após 24h de chuva), entre os tratamentos Com e Sem chuva, indicando uma possível melhor adaptação a regiões mais chuvosas.



### 1.3. Identificação, clonagem e seqüenciamento de genes diferencialmente expressos em resposta às variações climáticas em soja. (04.2000.331-03)

Alexandre L. Nepomuceno<sup>1</sup>, Norman Neumaier<sup>1</sup>, José Renato Bouças Farias<sup>1</sup>, João Flávio Veloso Silva<sup>1</sup>, Carlos Alberto Arrabal Arias<sup>1</sup>, Tetsuji Oya<sup>2</sup>, Silvana Regina Rochembach Marin<sup>1</sup>, Eliseu Binneck<sup>3</sup>, Noelle Giacomini Lemos<sup>4</sup>, Michele Claire Breton<sup>5</sup>, Polyana Kelly Martins<sup>5</sup>, Júlio Pedroso<sup>5</sup>, Nelson Delattre<sup>1</sup>

No ano 2001, o subprojeto introduziu a análise de expressão gênica em plantas submetidas a diferentes fotoperíodos e a análise de expressão em raízes de soja sob ataque de nematóides. O subprojeto também passou a integrar o Projeto

Genoma Funcional de Raízes da Embrapa (PROGEM/INOVAGEM), recebendo parte dos recursos de custeio e investimento. O aprimoramento na infra-estrutura e treinamento de pesquisadores e técnicos possibilitou a ampliação das informações sendo geradas pelo sub-projeto. A utilização da técnica *Differential Display* já vinha permitindo a identificação de vários genes diferencialmente expressos em soja sob condição de seca, como pode ser observado no relatório do ano anterior. Com a utilização do seqüenciamento em massa de bibliotecas de DNA complementar, o volume de seqüências geradas foi bastante ampliado favorecendo a criação de banco de seqüências e banco de genes expressos em plantas sob seca, em plantas sob ataque de nematóides e em plantas sob diferentes fotoperíodos. Dessa forma, foi adicionada aos objetivos do sub-projeto a disponibilização de genes envolvidos em respostas a fatores bióticos e abióticos através da criação de banco de genes *in vivo* e *in vitro*, e a disponibilização informatizada dessas informações, para permitir rápido acesso e uso em programas de melhoramento genético por transgenia ou assistido por unidades codificantes como marcadores seletivos.

Genótipos contrastantes para as características de interesse (tolerância a seca, resistência a nematóides, sensibilidade ao fotoperíodo) foram utilizados para análise com a técnica *Differential Display* e para o seqüenciamento sistemático de genes obtidos de bibliotecas de DNAC montadas a partir de plantas de soja submetidas a condições de déficit hídrico. As seqüências estão sendo

<sup>1</sup> Embrapa Soja

<sup>2</sup> Convênio JIRCAS/Embrapa Soja

<sup>3</sup> Bolsista Recém Doutor CNPq

<sup>4</sup> Bolsista Iniciação Científica CNPq

<sup>5</sup> Mestrando UEL

analisadas, utilizando o laboratório de bioinformática da Embrapa Soja. Os resultados estão sendo agrupados em ambiente informatizado e posteriormente serão disponibilizados via internet aos pesquisadores vinculados ao projeto. Seqüências diferencialmente expressas e seqüências obtidas dentro dos bancos de DNAC serão estudadas individualmente ou através da análise de matrizes de microarranjos de DNA.

O sub-projeto terá participação da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen), onde existe a possibilidade da construção dos microarranjos de DNA de alta densidade. Isso permitirá ampliar ainda mais os estudos de expressão de genes diferencialmente expressos. A técnica de Microarranjos de DNA permite que os níveis de expressão de milhares de genes sejam analisados em um mesmo momento. Os dados obtidos estão sendo utilizados na anotação do genoma funcional de soja junto ao banco de genes da Embrapa.

## Metodologia

### Extração de RNA

O RNAtotal e o RNAm estão sendo isolados de genótipos contrastantes para tolerância à seca, resistência a nematóides e sensibilidade ao fotoperíodo por extração com os reagentes *TRIZOL* (Invitrogen) e *Messenger Maker*<sup>TM</sup> (Invitrogen, coluna de oligo dT), respectivamente, de acordo com instruções do fabricante. Após a extração, o RNAtotal e RNAm será quantificado e terá sua qualidade analisada.

### A análise de Expressão Gênica por

Differential Display segue as seguintes etapas descritas no sub-projeto:

- a) otimização das reações de RT-PCR para Differential Display (DD), para cada grupo de primers usados em RNA total de soja;
- b) identificação e isolamento de "transcripts" de mRNA diferencialmente expressos, em genótipos de soja durante o déficit hídrico;
- c) clonagem de "transcripts" de RNAm diferencialmente expressos durante o déficit hídrico; e
- d) seqüenciamento de "transcripts" de RNAm diferencialmente expressos durante déficit hídrico.

A análise de Expressão Gênica por DNA Microarrays segue as seguintes etapas:

- a) construção de Bibliotecas de DNAC;
- b) seqüenciamento e organização de clones; e
- c) construção de MicroArrays, hibridizações com DNA alvo e escaneamento e análise dos dados.
- d) Análises de bioinformática
  - 1) Base Calling
  - 2) Filtragem
  - 3) Monitoramento da Qualidade das seqüências
  - 4) Atualização do banco de dados
  - 5) Submissão de Seqüências
  - 6) Anotação de Seqüências
  - 7) Alinhamento e Agrupamento
  - 8) MicroArrays
  - 9) Documentação e Estatísticas

Estão disponibilizados, no laboratório de biotecnologia da Embrapa Soja, mais de 4000 genes expressos em resposta a fatores bióticos e abióticos. As seqüências estão *in vitro* e *in silico* e podem ser acessadas mediante autorização da Chefia de Pesquisa e Desenvolvimento da Embrapa Soja.

Algumas das seqüências obtidas já estão sendo utilizadas junto com o programa BLASTX2 para analisar bancos de genes (eg.: Gene Bank) e identificar seqüências homólogas com função já conhecida. A Tabela 1.2, anexa, apresenta algumas dessas homologias.

**Tabela 1.2.** Identificação de clones de acordo com sua apresentação nos géis de poliacrilamida onde foram comparadas a expressão gênica de raízes dos genótipos de soja BRS133 e PI595099, infestados e não infestados com ovos e juvenis de nematóides de galhas.

Identificação do Clone <sup>1</sup>	Tamanho da Seqüência (pb)	Parte da planta	Homologia <sup>3</sup>									Homologia P(N)	Identidades Positivas
			BRS133 Inoculada <sup>2</sup>	BRS133 Não Inoculada	PI595099 Inoculada	PI595099 Não Inoculada	BRS133 Inoculada	BRS133 Não Inoculada	PI595099 Inoculada	PI595099 Não Inoculada			
A2B1-18	386	Raiz	..	..	++	..	..	++	++	++	Geraniol 10-hidroxiase <i>Catharanthus roseus</i>	5e-04	18(aa) 58%
A2B2-15	704	Raiz	++	+	++	++	..	++	++	++	Provável proteína <i>Cicer arietinum</i>	4e-55	115(aa) 56%
A2B2-5	766	Raiz	..	++	++	++	..	++	++	++	Receptor conservante da proteína do lúmen do Retículo Endoplasmático <i>Arabidopsis thaliana</i>	8e-86	156(aa) 77%
A2B2-9	898	Raiz	+-	+-	..	..	++	..	..	..	Subunidade PAF1 do proteossoma 20S <i>Arabidopsis thaliana</i>	1e-66	123(aa) 80%
A2B2-10	509	Raiz	++	..	..	..	++	..	..	..	Provável Transcriptase Reverso <i>Oryza sativa</i>	1e-09	43(aa) 29%
A2B3-19	833	Raiz	..	..	++	+	..	++	++	++	Similar ao cromossomo I de <i>A. Thaliana</i> . Provável retroelemento de poliproteína <i>Oryza Sativa</i> (cultivar japônes)	2e-27	80(aa) 34%
A2B3-22	810	Raiz	+-	++	++	++	++	..	..	..	Provável componente da síntese de glucano <i>Arabidopsis thaliana</i>	e-115	199(aa) 91%
A2B3-24	773	Raiz	..	..	++	++	+-	++	++	++	Provável proteína gag-pol	6e-26	58(aa) 37%
A2B3-27	553	Raiz	++	++	++	++	++	..	..	..	Provável proteína <i>Arabidopsis thaliana</i>	1e-11	33(aa) 76%
A2B3-32	396	Raiz	++	..	..	..	..	..	..	..	Provável proteína kinase NAKlike de serinaltreonina específica	6e-39	74(aa) 82%
A2B3-33	640	Raiz	++	..	..	..	..	..	++	++	Provável regulador de crescimento <i>Arabidopsis thaliana</i>	9e-73	126(aa) 77%

1 - Primeira letra + número = primer ancorado; Segunda letra + número = primer 10-mer; Terceiro número = posição da banda no gel.

2 - Tratamentos, ++ representa banda presente, -- representa banda ausente, +- representa banda fraca.

3 - Resultado da busca por homologia com genes conhecidos no "Genbank". Foi utilizado o programa BLASTX2 fornecido por "Bork Group's Advanced Search Services at EMBL".

4 - aa - representa aminoácidos.



#### 1.4. Estratégias para amenizar impactos decorrentes das adversidades climáticas (04.2000.331-05)

Alexandre L. Nepomuceno<sup>1</sup>,  
José Renato Bouças Farias<sup>1</sup>, Norman Neumaier<sup>1</sup>,  
Tetsuji Oya<sup>2</sup>, Alexandre José Cattelan<sup>1</sup>,  
Nelson Delattre<sup>1</sup>

O estreitamento das margens de lucro dos produtores de soja tem exigido cada vez mais a necessidade de disponibilizar alternativas a fim de reduzir custos e riscos de perdas devido a variáveis climáticas. Entre as alternativas, estão produtos químicos, biológicos e orgânicos que têm sido desenvolvidos e oferecidos aos produtores. Entretanto, existe uma variabilidade muito grande nas respostas induzidas por esses produtos, o que fortalece a necessidade de que sejam estudados, em detalhe. No segundo ano do subprojeto 04.2000.331-05, o produto *Thiamethoxan* foi novamente testado com o objetivo de avaliar efeitos sobre as características agrônômicas e fisiológicas da soja, a capacidade de favorecer a produtividade durante situações de estresse e a reprodutibilidade dos efeitos em anos consecutivos. No primeiro ano de teste, os resultados permitiram constatar que o produto atuou no desenvolvimento das plantas. Após o segundo ano de testes, foi confirmada a ação do produto atuando no desenvolvimento das plantas, nas condições mencionadas neste relatório. Vários parâmetros foram significativamente afetados ou mostram tendência

de sofrer ação do produto *Thiamethoxan*. Normalmente, os valores desses parâmetros aumentaram quando da aplicação do produto, favorecendo um desenvolvimento inicial mais vigoroso em termos de potencial para suportar períodos de estresse ambiental. Foi observada também interação entre dosagens do produto e as condições hídricas da cultura. Assim como sob condições de déficit hídrico, o produto pode favorecer aumento de produtividade, sob condições de excesso de água pode favorecer uma redução na produtividade (Fig. 1.6, 1.7 e 1.8). Neste aspecto, menores doses poderiam favorecer aumentos de produtividade na média das situações edafoclimáticas,

TRATAMENTOS	A) DIAS APÓS SEMEADURA	
	117	
17,5 g i.a/100 kg	4180	a*
52,5 g i.a/100 kg	3907	ab
105 g i.a/100 kg	4000	ab
105 g (pop 300000/ha)	3738	ab
Testemunha	3643	b

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste Duncan 5%.

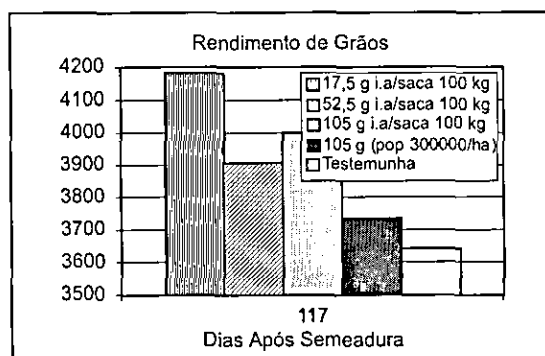


Fig. 1.6. Rendimento de grãos (kg/ha) de plantas de soja submetidas a diferentes doses do produto Thiamethoxam 700WS, sem irrigação, 2000/01.

<sup>1</sup> Embrapa Soja

<sup>2</sup> Convênio JIRCAS/Embrapa Soja

TRATAMENTOS	B) DIAS APÓS SEMEADURA	
	117	
17,5 g i.a/100 kg	3649	ns
52,5 g i.a/100 kg	3708	
105 g i.a/100 kg	3582	
105 g (pop 300000/ha)	3776	
Testemunha	3908	

ns Não significativo, pelo teste Duncan 5%.

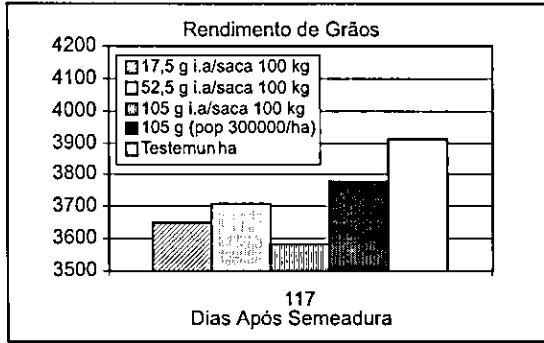


Fig. 1.7. Rendimento de grãos (kg/ha) de plantas de soja submetidas a diferentes doses do produto *Thiamethoxam 700WS*, com irrigação, 2000/01.

TRATAMENTOS	C) DIAS APÓS SEMEADURA	
	117	
17,5 g i.a/100 kg	3914.50	**
52,5 g i.a/100 kg	3807.50	
105 g i.a/100 kg	3791.00	
105 g (pop 300000/ha)	3757.00	
Testemunha	3775.50	

\*\* Não significativo, pelo teste Duncan 5%.

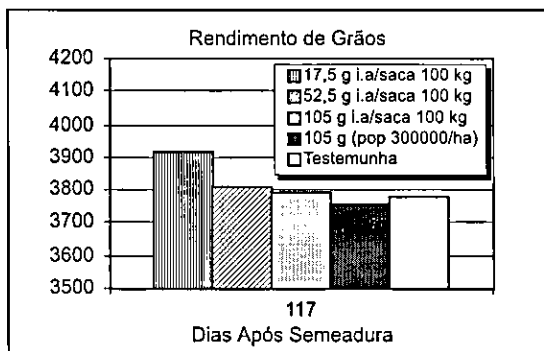


Fig. 1.8. Rendimento de grãos (kg/ha) de plantas de soja submetidas a diferentes doses do produto *Thiamethoxam 700WS*, na média de tratamento, com e sem irrigação, 2000/01.

enquanto que, dosagens mais elevadas poderiam aumentar o risco de acamamentos, conseqüentemente, acarretando prejuízos na produtividade. A redução desses riscos pode ser testada com o uso de populações menores de plantas e genótipos menos suscetíveis ao acamamento.

◆◆◆◆

### 1.5. Modelos de simulação do desenvolvimento da cultura da soja em resposta às variáveis do ambiente (04.2000.331-06)

José Renato Bouças Farias<sup>1</sup>,  
Thomas R. Sinclair<sup>2</sup>; Alexandre Lima  
Nepomuceno<sup>1</sup>,  
Norman Neumaier<sup>1</sup>, Tetsuji Oya<sup>3</sup>,  
Ivan Rodrigues de Almeida<sup>1</sup>

O enfoque sistêmico, viabilizado pelo uso de modelos de simulação de desenvolvimento, permite integrar os efeitos de diferentes condições edafoclimáticas sobre o comportamento da cultura, criando ferramentas eficazes para suporte à tomada de decisões operacionais e estratégicas, do nível governamental até o do produtor rural, contribuindo para o setor agrícola brasileiro tornar-se mais eficiente e competitivo. A demanda por modelos confiáveis e precisos tende a ser cada vez maior, principalmente, com os avanços da agricultura de precisão, com os trabalhos de riscos climáticos, zoneamento agrícola e monitoramento de safras em tempo real.

<sup>1</sup> Embrapa Soja.

<sup>2</sup> USDA/ARS University of Florida

<sup>3</sup> Convênio JIRCAS/Embrapa Soja

Nesse sentido, o presente subprojeto tem por objetivo geral disponibilizar modelos de previsão de rendimentos e de simulação do desenvolvimento da cultura da soja, capazes de constituírem-se em ferramentas eficazes para suporte à tomada de decisões e a estudos complementares, auxiliando na definição de atitudes operacionais e estratégicas, desde ao nível de país (governamental) até do produtor rural, contribuindo para o setor agrícola brasileiro tornar-se mais eficiente e competitivo. Todos os modelos ajustados serão validados, comparando os resultados das simulações aos valores observados a campo. Para tanto, está sendo organizado e mantido um banco de dados com área cultivada, produção e rendimento de grãos, com dados de diferentes anos e locais, para definição do grau de dispersão dos valores estimados, em relação aos valores observados a campo.

A fim de ajustar modelos de simulação da soja para regiões tropicais, foi estabelecida em 2000 e deu-se continuidade em 2001 a uma parceria com a Universidade da Florida e com o USDA-ARS, tomando por base um modelo desenvolvido e descrito por Sinclair (1986), o qual estima o desenvolvimento da cultura da soja através dos balanços de nitrogênio, carbono e água.

A estrutura básica do modelo teve que ser alterada para se adaptar ao ciclo da cultura da soja no Brasil, cuja semeadura começa em um ano e a colheita ocorre no ano seguinte, para a maioria das regiões produtoras, diferentemente do que ocorre nos EUA (na forma básica, o modelo foi definido para simular o ciclo

da cultura com início e término num mesmo ano). Feito isto, outros ajustes adicionais fizeram-se necessários para aproximá-lo da realidade das condições edafoclimáticas brasileiras, bem como adaptá-lo às características dos genótipos hoje desenvolvidos e recomendados para as regiões de baixa latitude. Ajustaram-se, ainda, a retenção de água do solo, a profundidade efetiva do sistema radicular, o final do desenvolvimento foliar, o início da formação do rendimento de grãos e as unidades de medida das variáveis climáticas. Selecionaram-se, como melhores ajustes, aqueles cujos valores estimados mais se aproximaram dos valores observados em campo e apresentaram, na análise de regressão linear passando pela origem, valor do coeficiente angular mais próximo de um.

A partir de um conjunto de dados obtidos em experimento realizado durante a safra 98/99, na Embrapa Soja, em Londrina, sob diferentes sistemas de preparo do solo, no qual foi realizado o balanço de nitrogênio total, ajustaram-se curvas de respostas da soja ao ambiente, considerando, principalmente, o ajuste do balanço de nitrogênio. Nesse conjunto, dispunha-se de observações meteorológicas diárias, manejo da cultura (datas de semeadura, cultivar, população de plantas), respostas fenológicas (emergência, floração, início da formação dos legumes, início do enchimento dos grãos, maturação fisiológica e colheita), respostas agrônômicas ao longo e ao final do ciclo (peso seco, peso fresco, altura de planta, número de legumes, número de grãos por legume,

peso de sementes, rendimento de grãos) e balanço de nitrogênio. Os valores de nitrogênio total estimados pelo modelo aproximaram-se consideravelmente aos valores observados a campo, demonstrando o desempenho satisfatório do modelo ajustado.

Uma série histórica de resultados experimentais obtidos de 91/92 até 99/2000, em ensaios conduzidos na Embrapa Soja, em Londrina, envolvendo diversas cultivares de soja submetidas a diferentes condições de disponibilidade hídrica, foi utilizada para validar as estimativas pelo modelo, ao longo do ciclo, de índice de área foliar (IAF) e peso da matéria seca (MS) de diferentes cultivares

de soja, com e sem déficit hídrico. Na Fig. 1.9, são apresentados, como exemplos, os resultados obtidos para as safras 91/92 e 95/96. Para completar o trabalho, foram estimados os rendimentos da cultura da soja para todas as safras (91/92 a 99/00), os quais estão representados na Fig 1.10. Verifica-se que o modelo ajustado permitiu estimativas satisfatórias do desenvolvimento da cultura e do rendimento de grãos, da emergência à maturação fisiológica, através dos balanços de nitrogênio, carbono e água, concluindo-se que o mesmo pode ser empregado com sucesso para estimar o desempenho da cultura da soja sob diversas condições.

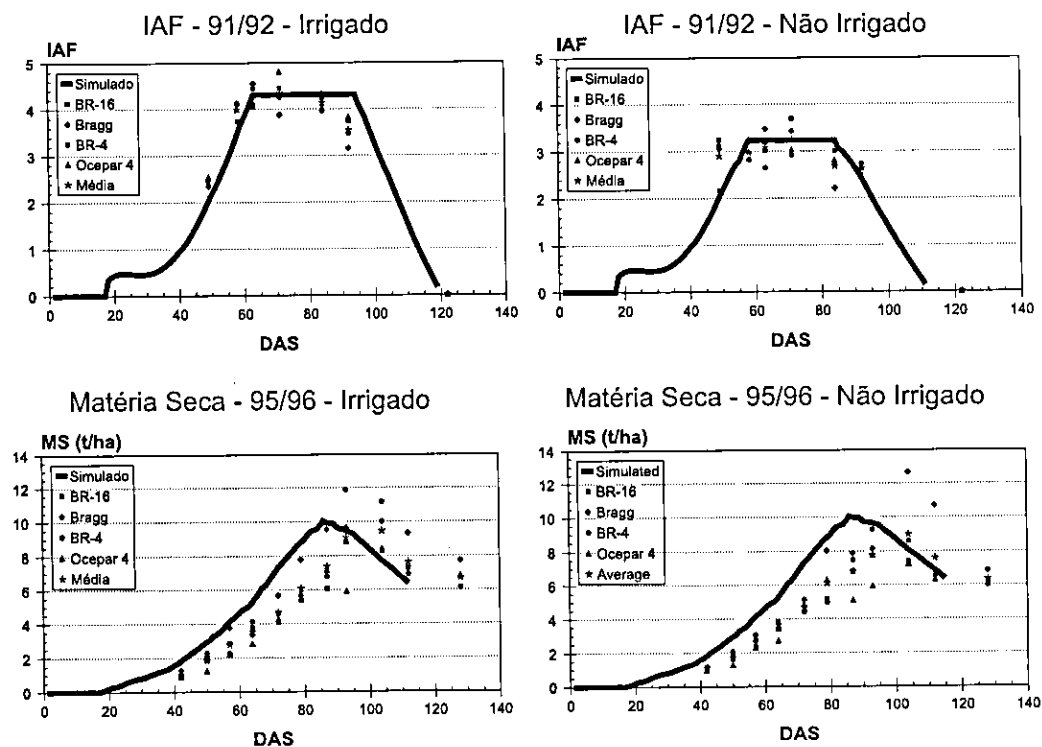


Fig. 1.9. Estimativas ao longo do ciclo de índice de área foliar (IAF) e peso da matéria seca (MS), de diferentes cultivares de soja, irrigadas e não irrigadas. Embrapa Soja, Londrina, 2002.

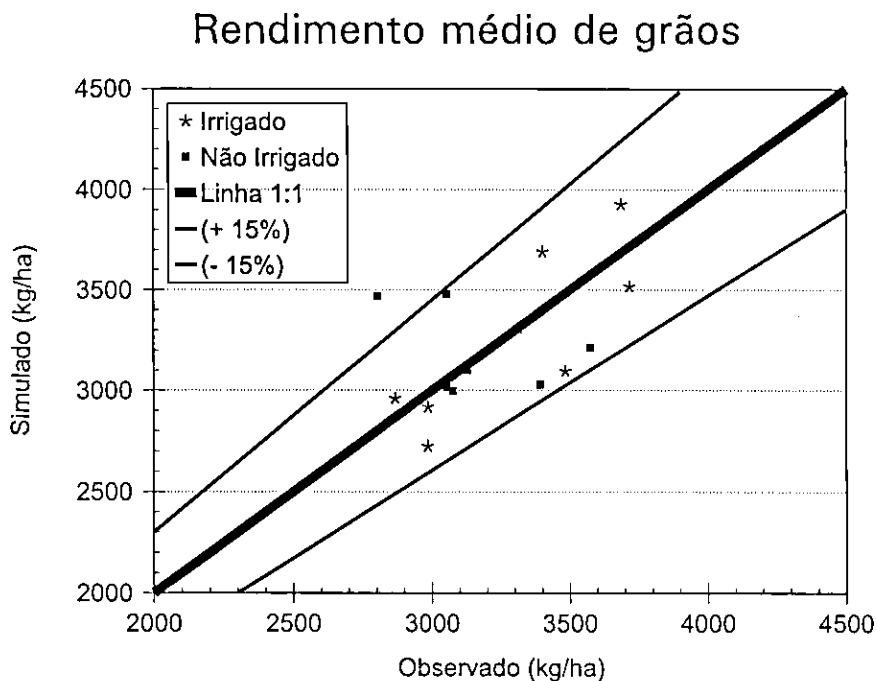


Fig. 1.10. Rendimento de grãos de soja observado e estimado para as safras 91/92 a 99/00, sob condições irrigadas e não irrigadas, em Londrina, PR. Embrapa Soja. Londrina, 2002.

◆◆◆◆



## GENÉTICA APLICADA AO MELHORAMENTO DA SOJA

# 2

Nº do Projeto: 04.2000.322

Líder: Carlos Alberto Arrabal Arias

Nº de Subprojetos que compõem o Projeto: 05

**Unidades / Instituições Participantes:** Embrapa Soja; BIOAGRO (Universidade Federal de Viçosa), Viçosa, MG; Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR; Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF; Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP, São Paulo, SP; Milenia Biotecnologia & Genética Ltda, Londrina, PR.

A existência de variabilidade genética e de métodos eficientes de seleção de genótipos superiores compõe as bases do sucesso de um programa de melhoramento genético moderno. Para a soja, várias características de importância são relativamente fáceis de manejar dentro de um programa de melhoramento e entram na rotina de trabalho durante o desenvolvimento do germoplasma. Outras características, entretanto, podem não estar disponíveis na soja, simplesmente pela ausência de genes de interesse, ou, quando existentes, não se dispõe de metodologia de avaliação adequada para que possam ser isolados e aproveitados no processo de desenvolvimento de cultivares. O avanço das técnicas em genética, incluindo introgressão de genes de outras espécies em soja, uso de marcadores moleculares e dos métodos de genética quantitativa, tem tornado possível atender a algumas das demandas do melhoramento que antes seriam impraticáveis.

O projeto tem como objetivo geral dar suporte ao programa de melhoramento e como objetivos específicos auxiliar o programa na identificação de genótipos com genes de resistência a doenças, com ênfase para a mancha parda e os nematóides de cisto e de galhas, incrementar o conhecimento da diversidade genética de fitopatógenos, identificar e incorporar genes de tolerância a determinadas moléculas de efeito herbicida no germoplasma de soja, dar subsídios genéticos para o aumento da eficiência na escolha de genótipos que participam de cruzamentos e retrocruzamentos e o armazenamento do máximo de variabilidade genética nos Bancos de Germoplasma.

Para atender a esses objetivos propostos, estão sendo desenvolvidos cinco subprojetos, que tiveram início no ano de 2000 e cujos resultados, referentes ao primeiro ano de atividades, serão relatados à seguir:

## 2.1. Identificação de marcadores moleculares ligados a genes de resistência a doenças (04.2000.322.01)

João Flávio Veloso Silva<sup>1</sup>,  
Maurílio Alves Moreira<sup>2</sup>, Carlos A. Arrabal Arias<sup>1</sup>,  
Alvaro Manuel Rodrigues Almeida<sup>1</sup>,  
José Tadashi Yorinori<sup>1</sup>,  
Romeu Afonso de Souza Kiihl<sup>1</sup>

Apesar da existência de vários métodos que podem ajudar no controle da maioria das doenças, a maneira mais prática e econômica é por meio do uso de cultivares resistentes. No entanto, para algumas doenças, o desenvolvimento dessas cultivares resistentes é prejudicado pela dificuldade de se fazer, com precisão, a seleção das plantas resistentes e, também, pela presença de raças do patógeno. Uma das alternativas para identificação de plantas resistentes é através do uso de marcadores moleculares para o mapeamento dos genes de resistência e a utilização das marcas identificadas na seleção indireta para a resistência, aumentando a eficiência do programa de melhoramento. Marcadores moleculares, como RFLP, RAPD, microsatélites e AFLP, tem sido extensivamente usados para identificação de genes de resistência a doenças.

Nesse contexto, este subprojeto tem como objetivos: identificar marcadores moleculares ligados a genes da soja que conferem resistência ao nematóide de cisto da soja, *Heterodera glycines*; identificar marcadores moleculares

ligados a genes da soja que conferem resistência ao nematóide de galhas, *Meloidogyne javanica*; e identificar marcadores moleculares ligados a genes da soja que conferem resistência à mancha parda, *Septoria glycines*. Em 2001, foram desenvolvidas atividades relativas ao nematóide *Meloidogyne javanica* e ao fungo *Septoria glycines*, descritas a seguir:

### 2.1.1. Nematóide de galha (*Meloidogyne javanica*)

Para a realização do estudo, foram utilizados como parentais os genótipos de soja BRS 133 (susceptível) e PI595099 (resistente). A partir desse cruzamento, obtiveram-se 25 linhagens altamente resistentes e 26 de elevada suscetibilidade a *M. javanica*.

Em casa-de-vegetação, essas gerações foram avaliadas quanto à resistência ao nematóide. As plantas foram cultivadas em tubetes plásticos (4,5 x 19 cm) contendo substrato esterilizado. Aos três a quatro dias após a emergência, foram inoculadas individualmente com 3.000 ovos de *M. javanica*. A avaliação foi feita 30 dias após a inoculação, contando-se o número de galhas/planta. Plantas com maiores níveis de resistência e suscetibilidade foram utilizadas para as ampliações do DNA.

As reações de PCR foram realizadas em termociclador Perkin Elmer 9600 e foram constituídas de 3,0  $\mu$ L de DNA molde (10 ng/ $\mu$ L); 10,8  $\mu$ L de água MilliQ; 2,0  $\mu$ L de tampão de reação 10x (100 mM de Tris-HCl pH 8,3; 500 mM de KCl e 400

<sup>1</sup> Embrapa Soja

<sup>2</sup> UFV



$\mu\text{L}$  de água milliQ); 1,0  $\mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  (50 mM); 1,0  $\mu\text{L}$  de desoxinucleosídeotri-fosfato (2,5 mM); 0,2  $\mu\text{L}$  de Taq-polimerase (5 U/ $\mu\text{L}$ ) e 1,0  $\mu\text{L}$  dos primers F e R (Research Genetics Inc.- Map Pairs™), completando um volume final para cada amostra de 20  $\mu\text{L}$ . Esses passos foram repetidos para cada combinação genótipo x marcador microssatélite.

Os programas de termociclagem foram compostos de desnaturação inicial a 94°C por 7 minutos; 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 1 minuto, anelamento a 50°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 2 minutos. Um ciclo de 72°C por 7 minutos foi feito ao final. O produto da amplificação foi resolvido em gel de 0,7% de agarose (GibcoBRL) e 1,15% de aditivo clarificador de agarose (Synergel), preparado com TBE 1x (108g tris base, 55g ácido bórico e 40 mL EDTA 0,5M pH 8,0) e corado com brometo de etídio (10mg/mL). A aquisição das imagens foi feita utilizando-se o Sistema Kodak Digital DC 290.

Os 93 primers utilizados foram previamente escolhidos a partir de banco de dados de DNA de soja (Cregan et al., 1999) e estão localizados nos 20 grupos de ligação da soja, 4 em cada grupo, com exceção dos grupos D1b+W e F, onde foram escolhidos 6 e 15 primers respectivamente. Atenção maior foi dada ao grupo de ligação F, uma vez que nesse grupo foram detectados QTLs de resistência a *M. javanica*. Análises de variância foram realizadas para todas as combinações entre os marcadores polimórficos e o número de galhas, obtido com a média da família F3 da população resistente, como efeitos

principais. Todas as análises estatísticas foram feitas com auxílio do programa de computador SAS.

O efeito de cada marca molecular polimórfica sobre a resistência foi considerada significativa quando a probabilidade fosse menor que 1% ( $P < 0.01$ ) pelo teste F obtido na análise de variância. Marcadores com probabilidades entre 1% e 10% ( $0.01 < P < 0.10$ ) também foram selecionados para verificação de seus efeitos sobre a população de plantas suscetíveis.

O mapeamento e a análise de QTL (locos de caracteres quantitativos) foram realizadas utilizando os programas MAPMAKER EXP e MAPMAKER QTL, respectivamente.

Após análise de QTL realizada sobre os grupos de ligação, os fragmentos gerados por marcadores microssatélite que apresentaram efeito significativo sobre o número de galhas, foram clonados e sequenciados.

A partir do fragmento amplificado, o DNA foi purificado e, a seguir, células de *Escherichia coli* (cepa XL-blue) foram transformadas via eletroporação utilizando-se o plasmídeo pGEM Easy Vector (Promega Corp.). Após a clonagem, os fragmentos de interesse foram sequenciados em sequenciador ABI Prism 3100 Genetic Analyzer (Applied BioSystem). As seqüências finais foram submetidas à análise no NCBI Blast a fim de verificar sua homologia com genes disponíveis em bancos de dados (e.g Gene Bank).

Entre os 93 locos analisados, os marcadores de microssatélite Satt 155, Satt 236, Satt 509, Satt 202, Satt 266,

Satt 290, Satt 543, Satt 423, Satt 554, Satt 192, Satt 418, Satt 584, Satt 041, Satt 434, Satt 571, Sat\_128, Sat\_132, Soy HSP 176 e Satt 114 foram polimórficos para os parentais BRS 133 e PI 595099 e todos os 19 locos foram utilizados para amplificar a população resistente.

A análise sobre a amplificação dos 19 marcadores polimórficos, realizada sobre a população resistente, indicou cinco marcas significativas ( $P < 0,10$ ): Satt 571, Sat\_128, Sat\_132, Soy HSP 176 e Satt 114, pertencentes respectivamente aos grupos de ligação I, B1, O e F. Essas marcas foram testadas sobre a população suscetível, e dois marcadores, Soy HSP 176 e Satt 114, do mesmo grupo de ligação, confirmaram sua significância sobre o caráter ( $P < 0,05$ ).

Utilizando o programa MAPMAKER QTL (Lincoln, 1992), foi realizada uma análise sobre as marcas do grupo de ligação F e os resultados indicaram a presença de pelo menos um gene localizado próximo ao marcador Soy HSP 176, com um Lod de 27,5 (Fig. 2.1). Toda a extensão coberta pelos marcadores Satt 114 e Soy HSP 176, distantes em 8,3 cM, apresentou Lod's elevados, variando de 22,6 a 27,5.

A análise das seqüências resultantes do sequenciamento do fragmento gerado pelo marcador microssatélite Soy HSP 176, presente nos indivíduos suscetíveis e ausente nos resistentes, mostrou homologia de 98% com uma proteína do choque térmico presente na soja, a seqüência analisada consistia em 95 pb, incluindo a seqüência dos primers utilizados.

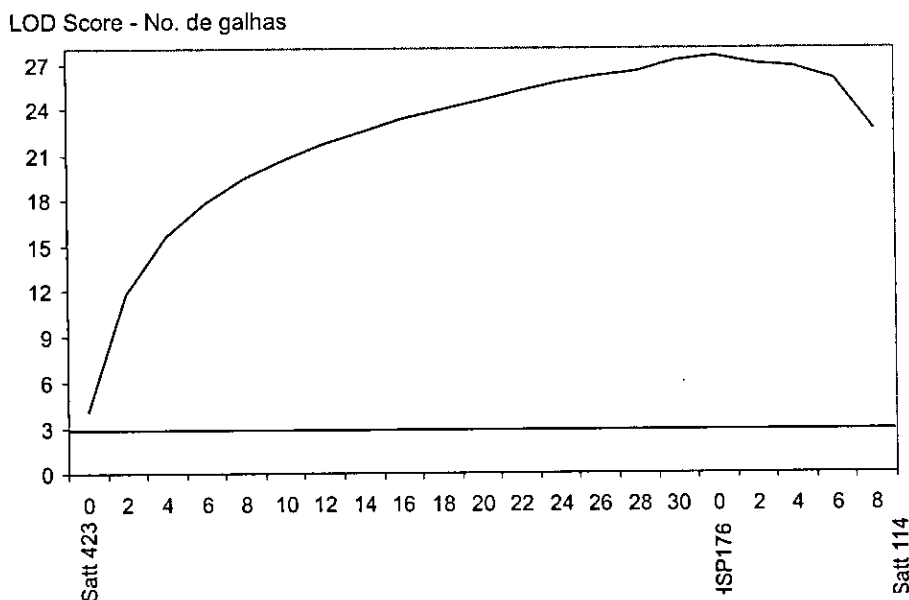


Fig. 2.1. Análise de QTL indicando LODs para os marcadores Satt 423, Soy HSP 176 e Satt 114, do grupo de ligação F.

### 2.1.2. Mancha Parda (*Septoria glycines*)

Foi utilizada uma população  $F_{2,3}$  oriunda do cruzamento FT-2 x Davis, constituída de 116 plantas  $F_2$ , que foram semeadas em casa-de-vegetação para coleta do DNA de plantas individuais e também para avaliação da reação à *S. glycines*. As sementes de cada planta  $F_2$  foram colhidas individualmente, produzindo sementes  $F_{2,3}$ . Essas sementes foram utilizadas para realizar experimento em casa-de-vegetação, incluindo 20 repetições de cada parental e cinco repetições de cada uma das 116 progênies  $F_3$ .

As avaliações para *S. glycines* foram realizadas conforme descrito no subprojeto 04.2000.322-04. A distribuição de freqüências para o nível de infecção médio nas folhas das famílias  $F_3$  aproximou-se da distribuição normal, não sendo possível a separação de classes fenotípicas bem definidas, indicando tratar-se de um caráter quantitativo. A herdabilidade para o caráter variou de 12,4% à 50,65% para os trifólios avaliados individualmente, indicando que é possível obter respostas à seleção para resistência à mancha parda.

Marcadores microssatélites estão sendo utilizados neste estudo. Primeiramente, selecionaram-se marcas moleculares com base em sua posição nos mapas de ligação disponíveis para a soja. Procurou-se testar um número equitativo de marcas por grupo de ligação. Aquelas marcas que produziram polimorfismo nos genótipos parentais foram testadas na população segregante.

Foi realizada a extração, a quantifi-

cação e a reação de amplificação com primers microssatélites para os DNA's das folhas  $F_2$ . O resultado foi observado através de luz-ultravioleta e fotografado. Foram testados 170 primers de microssatélite com base no mapa genético da soja e testados nos parentais. Desses, somente 18 foram polimórficos nos pais e foram utilizados para avaliar a população segregante.

De posse dos dados fenotípicos e de marcas para cada planta da população, foram realizadas análises de variância e de regressão para cada marca, procurando marcas significativas para o caráter, com potencial para serem utilizadas na seleção de genótipos resistentes. Análises de variância univariadas, utilizando cada marca como variável classificatória, indicaram significância dos marcadores Satt 509, Satt 577 e Satt 584, com presença de efeitos aditivos e de dominância, tanto para a resistência como para a suscetibilidade do caráter. Pela análise bivariada foram detectados dois casos de interação entre os marcadores, indicando que há epistasia, ou seja, que uma marca é influenciada pela outra, o que aumenta a complexidade do caráter estudado. Os marcadores moleculares apresentaram significâncias baixas na análise de variância, variando de 5,6% a 22%, contudo, foram levadas em consideração por possuírem efeitos aditivos ou de dominância abaixo de 13%. Deve-se dar importância também para essas significâncias baixas, pois esse fato ocorre para marcas próximas a genes de interesse, mas que apresentam efeitos pequenos, bem como para marcas que estão

mais distanciadas de genes com efeitos grandes.

Mais marcas deverão ser estudadas para os grupos de ligação B1, B2 e N, onde foram detectadas algumas significâncias e para os grupos A1, C1, E, G e H, onde houve pouco ou nenhum polimorfismo com o conjunto de marcas estudadas.



## 2.2. Estudo da diversidade genética de patógenos de soja (04.2000.322.02)

Álvaro M. R. Almeida<sup>1</sup>, Maria Menezes<sup>2</sup>,  
Fernanda F. Piuga<sup>3</sup>, Thalita G. Oliveira<sup>3</sup>,  
Silvana R. R. Marin<sup>1</sup>, Luis C. Benato<sup>1</sup>,  
Mauro C. Pinto<sup>1</sup> e Nilson Valentin<sup>1</sup>.

A cultura da soja vem sendo anualmente afetada por diversos organismos causadores de doenças. Normalmente, o controle é feito através de genótipos resistentes. Para isso, é necessário que os testes desafios, onde se vão excluir linhagens suscetíveis a uma doença, sejam feitos com a maior variabilidade possível do patógeno, de modo que uma cultivar ao ser indicada não se mostre suscetível a isolados não testados.

Para que essa certeza ocorra é necessário que os melhoristas utilizem uma mistura de isolados do mesmo patógeno, oriundos de diversos locais. Normalmente, isso é feito sem que se saiba realmente qual a variabilidade genética desses isolados. Uma forma

tradicional de se determinar a variabilidade genética de microrganismos é através de testes de patogenicidade. Essa técnica requer o uso de método adequado de inoculação, sistema de avaliação e grande espaço de trabalho. Uma outra possibilidade é utilizar métodos moleculares, os quais determinam variabilidades genéticas entre isolados de um mesmo patógeno. Essa variabilidade é determinada utilizando o DNA total, incluindo inúmeros genes que não possuem associação com patogenicidade. Por isso, é necessária uma etapa adicional que procure identificar variabilidade na patogenicidade. Desde o início deste trabalho, em 2000, pôde-se constatar as diversidades de isolados brasileiros de *Cercospora kikuchii*, *Fusarium solani* f.sp. *glycines*, *Sclerotium rolfsii*, *Corynespora cassiicola* e *Macrophomina phaseolina*. Os resultados obtidos demonstraram que todos os patógenos utilizados nos processos de seleção de cultivares apresentaram diversidade genética, em maior ou menor escala, indicando que a estratégia de se utilizar mistura de isolados constitui uma maneira adequada para evitar que as cultivares tenham "vida curta".

Outro objetivo deste trabalho foram os estudos de taxonomia. A identificação de um determinado patógeno é uma tarefa que exige muito treino e grande conhecimento. Um método auxiliar consiste na comparação de perfís eletroforéticos, tanto de DNA total como de DNA ribossômico. Nesse caso, os perfís de patógenos conhecidos são utilizados para comparação com perfís das amostras em estudo.

<sup>1</sup>Embrapa Soja

<sup>2</sup>UFRPR

<sup>3</sup>Estagiária Embrapa Soja/UNOPAR

Nesta fase do estudo, procurou-se avaliar a possibilidade de caracterizar espécies do gênero *Fusarium*. *Fusarium solani* f. sp. *glycines*, agente causal da podridão vermelha da raiz, vem aumentando nas áreas de cultivo de soja. Sua identificação depende, fundamentalmente, de estudos taxonômicos, visto que a coloração azul dos esporos, de alguns isolados, nem sempre é observada, em outros. Outra variante dessa espécie (*F. solani* f.sp. *phaseoli*), também parasita a soja e taxonomicamente as duas são muito similares.

Raízes de soja e solo, coletados em parcelas com diferentes sistemas de rotação e/ou sucessão, foram utilizados para isolamento de espécies de *Fusarium*. As raízes, após lavadas ligeiramente, foram incubadas em câmara úmida para retirada de isolados. Outros fragmentos foram esterilizados, procurando-se efetuar isolamentos da medula. Amostras de solo, coletadas na profundidade de 10 cm, foram peneira-

das e misturadas em meio específico para isolamento de *Fusarium*. Todas as colônias foram isoladas e desenvolvidas em meio líquido, obtendo-se micélio para extração de DNA total. A seguir, procedeu-se a amplificação por RAPD. Outra metodologia foi a amplificação de fragmentos de DNA da região intergênica (ITS), por PCR, com primers ITS1 e ITS4. O fragmento de DNA amplificado foi digerido por Hae III.. Após corrida por eletroforese, observaram-se os padrões formados nos géis, os quais foram fotografados e a presença/ausência de bandas avaliada.

Constatou-se que as espécies de *Fusarium* específicas de soja e feijão podem ser separadas por esse método (Fig. 2.2). Em alguns casos, há aparecimento de bandas não específicas. Uma amostra, identificada como sendo de *F. oxysporum*, apresentou padrão eletroforético similar ao isolado de *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, requerendo nova avaliação.

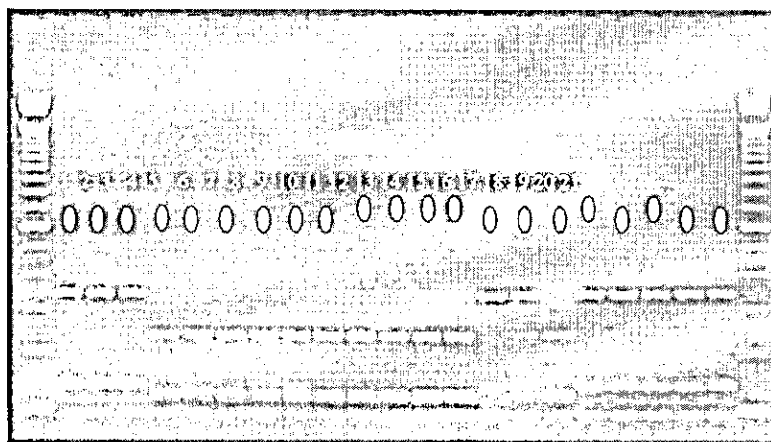


Fig. 2.2. Fragmentos de DNA da região ITS obtidos por reação de polimerase em cadeia e digeridos por enzima de restrição Hae III. Amostras 1,2, 3, 17-21 = *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*; 4,5,6,7,8,9,10,11, 12 e 16 = *F. solani* f. sp. *glycines*; 14 e 15 = *F. oxysporum*.

### 2.3. Caracterização do germoplasma ativo de soja com marcadores moleculares tipo AFLP e Microssatélites (04.2000.322.03)

Carlos Alberto Arrabal Arias<sup>1</sup>, Ana Lídia Variani Bonato<sup>2</sup>, Silvana Regina Rockenbach Marin<sup>1</sup>, Maurílio Alves Moreira<sup>3</sup>, Leones Alves de Almeida<sup>1</sup> e Lizandra L. Catteli<sup>4</sup>

Desde a aprovação da Lei de Proteção de Cultivares, a proteção de cultivares de soja tornou-se possível, desde que comprovada suas distingüibilidade, homogeneidade e estabilidade (DHE). Com o aumento do número de cultivares de soja lançadas a cada ano e com o elevado nível de parentesco que existe entre elas, é natural que a distinção de novos genótipos se torne cada vez mais difícil, exigindo a utilização de marcadores moleculares. As atividades de determinação da distingüibilidade no DHE e de caracterização genética de cultivares e acessos do banco de germoplasma (BAG) podem ser beneficiadas com o auxílio de marcadores moleculares. Este subprojeto tem como objetivo a busca de marcadores moleculares eficientes para caracterizar genótipos de soja e a caracterização molecular, com o auxílio de marcadores microssatélites de cultivares de soja já recomendadas no Brasil e também de acessos do banco de germoplasma de soja mantidos pelo programa de melhoramento genético da Embrapa Soja.

<sup>1</sup> Embrapa Soja

<sup>2</sup> Doutorado pela ESALQ / USP.

<sup>3</sup> BIOAGRO / UFV.

<sup>4</sup> Graduação pela UNIFIL.

No ano de 2001, foi disponibilizado um banco de dados com a matriz de distâncias, obtidas com marcadores tipo AFLP, entre 300 cultivares de soja liberadas no período de 1962 a 1998. As distâncias e os agrupamentos disponibilizados aos melhoristas podem auxiliar no planejamento de cruzamentos com maior ou menor divergência genética, de acordo com o interesse do melhorista.

Para caracterizar molecularmente os acessos do BAG, 2640 acessos foram organizados com informações sobre origem e sobre caracteres fenológicos. Com base nessas informações, foram selecionados 700 acessos para a realização deste estudo. Como essa atividade ficou dependente de recursos externos que não foram aprovados, as análises moleculares não puderam ser iniciadas em 2001. Para evitar maiores atrasos nessa atividade, será iniciado o processo de extração de DNA desses materiais.

Com o objetivo de selecionar marcadores microssatélites multialélicos para fins de diferenciação e caracterização de genótipos de soja, 17 cultivares, selecionadas com base nos agrupamentos da análise de AFLP's desenvolvidos neste trabalho, tiveram seus DNAs extraídos e foram submetidos a análises moleculares. A partir de 12 pares de primers de microssatélites, foram encontradas 26 bandas polimórficas que diferenciaram 15 das 17 cultivares (Fig. 2.3). O conjunto de primers utilizados demonstraram ter grande potencial para diferenciação de cultivares de soja. Apenas as cultivares MSBR 19 (Pequi) e Cariri RCH ainda não foram diferenciadas pelo conjunto de bandas disponíveis, o que era esperado já

que, geneticamente, elas são muito relacionadas. Este trabalho está sendo

realizado em parceria com o Bioagro da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

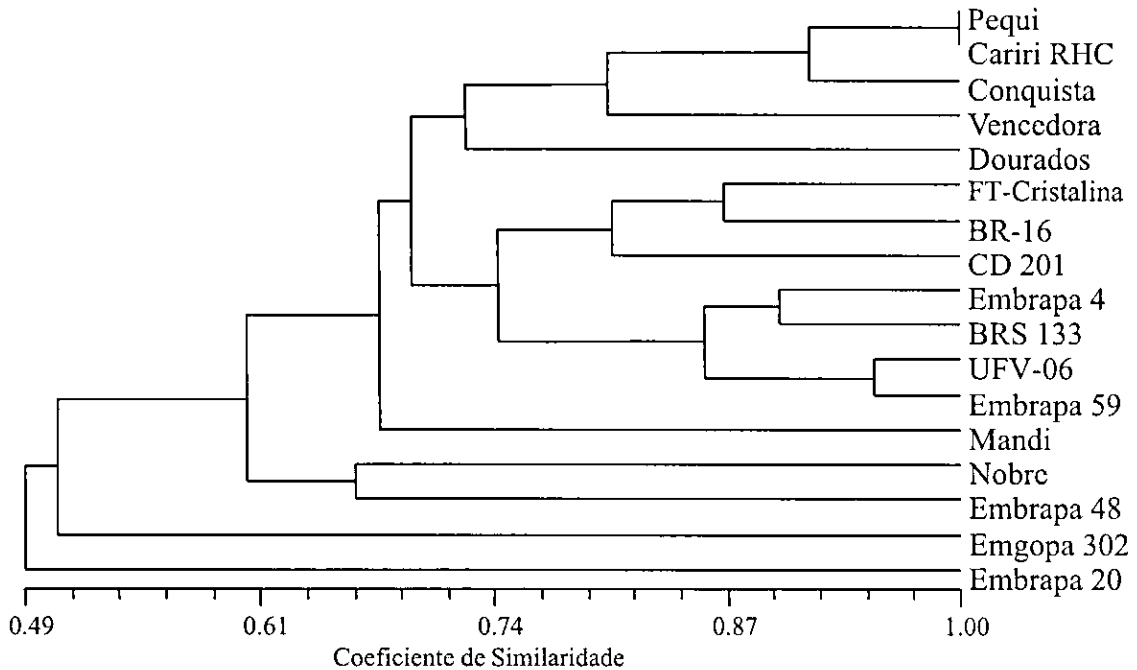


Fig. 2.3. Agrupamentos obtidos após análise com 12 primers de microsátélites e 26 bandas polimórficas sobre 17 cultivares de soja.



## 2.4. Genética quantitativa aplicada ao melhoramento da soja: diversidade genética e resistência a doenças (04.2000.322-04)

Carlos A. A. Arias<sup>4</sup>, José F. F. de Toledo<sup>4</sup>, Marcelo F. de Oliveira<sup>4</sup>, José Tadashi Yorinori<sup>4</sup>, Rodrigo L. Brogin<sup>1</sup>, Cláudio C. Portela<sup>2</sup>, Willyam Stern Porto<sup>3</sup>, Elizabete de Oliveira Dorta<sup>3</sup>

Para avaliar e tornar a variabilidade genética de caracteres de importância mais acessível para os programas de melhoramento de soja, foram traçados

os seguintes objetivos: averiguar a eficiência do uso de marcadores moleculares como estimadores da diversidade genética; estudar a herança da resistência à mancha parda nos estádios iniciais de desenvolvimento da soja; e estudar a herança da tolerância da soja a *M. javanica*.

<sup>1</sup> Mestrado em Genética e Melhoramento pela Universidade Estadual de Londrina

<sup>2</sup> Bolsista Recém-Doutor pelo CNPq

<sup>3</sup> Bolsista Iniciação Científica pelo CNPq

<sup>4</sup> Embrapa Soja

### **Divergência genética**

No âmbito de outro subprojeto (04.2000.322-03), têm-se desenvolvido trabalhos com marcadores moleculares tipo AFLP para caracterizar todas as cultivares de soja recomendadas no Brasil e conhecer a distância genética entre elas. Com o objetivo de averiguar a eficiência do uso de marcadores moleculares para medir a diversidade genética entre genótipos elites de soja, foram selecionadas, com base no trabalho com AFLP, 16 cultivares classificadas em diferentes grupos de divergência. Essas cultivares foram utilizadas para produzir 19 combinações híbridas. Os 16 genótipos parentais e as gerações F2 derivadas de cada combinação híbrida foram semeados em 16/10 e 13/11/2000, segundo um delineamento inteiramente casualizado com 20 plantas de cada parental e 60 plantas F2 de cada combinação híbrida. Esse material foi produzido em casa-de-vegetação no inverno imediatamente anterior à semeadura dos experimentos para garantir uniformidade no vigor das sementes. Houve aleatorização individual de plantas (01 planta = 01 cova = 01 parcela). O espaçamento entre covas na linha e entre-linhas foi de 20 cm e 1,5 m, respectivamente. Entre cada linha útil, foram semeadas duas linhas de bordadura com as sementes remanescentes dos experimentos, resultando no espaçamento final de 0,50 m entre linhas. Esse procedimento foi usado para facilitar a locomoção dentro dos experimentos, necessária para as coletas de dados e para aumentar a densidade (para aproximadamente

300.000 plantas/ha) e a competição entre plantas.

Na safra 2000/01, foram avaliados o peso total de grãos, o número de dias para o florescimento e para a maturação, a altura de planta na floração e na maturação e o número de nós. Com os dados preliminares do primeiro ano, incluindo as médias e as variâncias dos parentais e gerações F2 derivadas das 19 combinações híbridas, foram estimadas as variâncias genéticas de cada combinação, as quais foram comparadas com as distâncias moleculares de AFLP. As correlações gerais, tomando-se as 19 combinações híbridas, entre a raiz quadrada da variância genética (DG) e a distância molecular (DM), foram não significativas para todos os caracteres avaliados, nas duas épocas de semeadura, com valores próximos a zero e até negativos, indicando que as distâncias moleculares não foram bons estimadores do nível de variabilidade gerada no cruzamento.

Considerando apenas as sete combinações híbridas em que participa a cultivar Embrapa 59, essas correlações foram de 0,43, em outubro, e 0,60, em novembro, para peso total de grãos. Com as seis combinações, incluindo a cultivar MSBR-19 Pequi, essas correlações foram de 0,28 e 0,70, respectivamente. Portanto, as distâncias moleculares apresentaram as maiores correlações com variância genética, nas semeaduras de novembro. O mesmo padrão de correlação também foi observado para os caracteres com herança mais complexa. Esse resultado era teoricamente espera-



do, pois em semeadura antecipada como a de outubro, os caracteres avaliados são muito influenciados por genes maiores que controlam o florescimento tardio, em condições de dias curtos. Em novembro, todos os genótipos conseguiram atingir uma altura normal e estiveram menos expostos a estresses ambientais.

Entretanto, esse padrão não foi confirmado quando foram consideradas as quatro combinações, incluindo a cultivar MGBR 46 (Conquista), onde as correlações foram 0,001 e 0,31, respectivamente, para outubro e novembro. Conquista é uma cultivar tardia quando cultivada no Paraná e esse efeito se reflete nas descendências dos cruzamentos em que participa, gerando grande variabilidade para os caracteres em questão. Essa variabilidade fenotípica também pode ter sido resultante da ação de genes para período juvenil longo. Assim, têm-se poucos genes afetando significativamente a variância genética desses caracteres e os marcadores que medem a variância, amostrando o genoma como um todo, acabam não cumprindo seu objetivo.

Preliminarmente, pode-se concluir que as correlações entre distância molecular com base em AFLP e variabilidade genética gerada em um cruzamento é nula no cômputo geral de cruzamentos e positiva para cruzamentos específicos que sofrem menor efeito de genes maiores. Como essas correlações foram calculadas com base em apenas um ano e sobre a geração F2, será necessário aguardar as estimativas da safra 2001/02, as quais incluirão também a

geração F3 e, conseqüentemente, representarão melhor a variabilidade do cruzamento.

### Resistência à mancha parda

Para estudar o controle genético da resistência da soja à mancha parda (*Septoria glycines*), foram realizados dois experimentos em casa-de-vegetação (semeaduras em 30/11/1999 e 25/01/2000) com avaliações nos estádios iniciais do desenvolvimento da soja. O material genético incluiu duas cultivares tolerantes à mancha parda (FT-2 e Dourados) e duas suscetíveis (Davis e Paraná), além das gerações F2 e F3 derivadas dos cruzamentos entre elas. Uma suspensão contendo  $5 \times 10^6$  esporos de *S. glycines* foi utilizada para a inoculação no estádio V3/V4 de desenvolvimento da soja. Após a inoculação, foi avaliado o nível de infecção nos três primeiros trifólios, utilizando uma escala de notas de zero a dez. O caráter apresentou distribuição contínua, não sendo possível evidenciar a presença de genes maiores.

Os modelos genéticos ajustados às médias e variâncias das gerações indicaram a predominância de efeitos genéticos aditivos na determinação da resistência das várias fontes. A herdabilidade variou de 39% a 57%, indicando ser possível obter ganhos significativos com seleção utilizando este mesmo método de avaliação.

As dificuldades inerentes às avaliações de campo, complicadas pelas diferenças na idade fisiológica das plantas no final do ciclo e pela maior

desuniformidade ambiental, sugerem que essas avaliações precisam ser realizadas em condições de casa-de-vegetação, sobre pelo menos dois trifólios de plantas, sobre progênies ao invés de plantas individuais e buscando-se a maior uniformidade ambiental possível. Isso pode ser obtido pela distribuição uniforme do inóculo nas plantas e, principalmente, da umidade superficial nas folhas, obtida com nebulizadores bem distribuídos em relação às plantas a serem avaliadas. A avaliação precoce nos estádios iniciais das plantas diminui as diferenças provocadas pelo efeito de ciclo, tornando os resultados comparáveis.

#### Resistência à *Meloidogyne javanica*

No estudo da resistência da soja ao *M. javanica*, os genótipos PI 595099 e Coodetec 201, resistentes, foram cruzados com BRS 133, suscetível. Os parentais e as gerações F<sub>2</sub> e F<sub>3</sub> foram inoculados e avaliados em casa-de-vegetação. Pelo menos dois genes determinam a resistência na PI 595099, com possibilidade de seleção sobre plantas ou médias de famílias em gerações precoces; e pelo menos dois genes determinam a resistência da Coodetec 201, com maior dominância, fazendo com que a seleção seja feita sobre média de famílias em gerações mais avançadas após o cruzamento.



## 2.5. Transformação de plantas de soja por Biobalística com genes de interesse (04.2000.322-05)

Alexandre L. Nepomuceno<sup>1</sup>, Solange Luge<sup>2</sup>, Carlos Arrabal Arias<sup>1</sup>, João Flavio Veloso Silva<sup>1</sup>, Norman Neumaier<sup>1</sup>, José Renato Bouças Farias<sup>1</sup>, Tetsuji Oya<sup>3</sup>, Silvana Regina Rochembach Marin<sup>1</sup>, Eliseu Binneck<sup>4</sup>, Noelle Giacomini Lemos<sup>5</sup>, Michele Claire Breton<sup>6</sup>, Polyana Kelly Martins<sup>6</sup>, Júlio Cesar Pedroso<sup>6</sup>, Nelson Delattre<sup>1</sup>, Elíbio Rech<sup>7</sup>, Francisco J.L. Aragão<sup>7</sup>, Newton Carneiro<sup>7</sup>, Adilson Leite<sup>8</sup>

A transformação por biobalística foi inicialmente proposta por Sanford et al., (1987), objetivando a introdução de material genético no genoma nuclear de plantas superiores. A biobalística utiliza microprojéteis em alta velocidade para introduzir ácidos nucléicos e outras moléculas em células e tecidos *in vivo*. Para a utilização deste método, diferentes sistemas capazes de acelerar micropartículas (0,2 a 4 mm de diâmetro) cobertas com seqüências de ácidos nucléicos a velocidades superiores a 1500 km/h foram desenvolvidos e construídos. Foi demonstrado que essas partículas (de ouro ou tungstênio), penetram a parede e a membrana celulares de maneira não letal, alojando-se aleatoriamente nas organelas celulares. Posteriormente, o DNA é dissociado das micropartículas pela ação do líquido celular, e integrado ao genoma nuclear

<sup>1</sup> Embrapa Soja

<sup>2</sup> Bolsista DTI/CNPq

<sup>3</sup> Convênio JIRCAS/Embrapa Soja

<sup>4</sup> Bolsista Recém Doutor CNPq

<sup>5</sup> Bolsista Iniciação Científica CNPq

<sup>6</sup> Mestrando UEL

<sup>7</sup> Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>8</sup> UNICAMP

do organismo receptor. Muitos desses sistemas de aceleração de micropartículas são baseados na geração de uma onda de choque com energia suficiente para deslocar uma membrana carreadora contendo as micropartículas cobertas com DNA. Os sistemas que utilizam gás hélio sob alta pressão têm demonstrado possuir um amplo espectro de utilização e ser mais eficientes para a obtenção de altas frequências de transformação, em diferentes espécies vegetais.

No primeiro ano do projeto, foi possível estabelecer e adaptar o protocolo de biobalística desenvolvido por Aragão et al. (2000) (patenteado pela Embrapa; Pat. nº WO09918223A1) no laboratório de biotecnologia da Embrapa Soja.

Os disparos foram efetuados inicialmente na cultivar Conquista (MGBR46) com o gene *ahas* que expressa a enzima sintetase ácida hidroxiaacética (acetohydroxyacid synthase, E.C. 4.1.3.18) que catalisa uma etapa inicial da síntese dos aminoácidos isoleucina, leucina e valina. Normalmente, essa enzima é inativada por herbicidas da classe das imidazolinonas. O gene *ahas* utilizado nas transformações foi obtido de *Arabidopsis thaliana*, onde uma mutação de ponto na posição 653 pb do gene resultou na substituição de uma serina por uma asparagina, conferindo a esse mutante resistência aos herbicidas da classe das imidazolinonas.

Somente contendo os elementos (seqüências de DNA) para a expressão do gene *ahas* estava sendo utilizada nos disparos para obtenção de plantas resistentes ao herbicida. Para isso, o

plasmídeo pAC321, contendo os elementos, é digerido com a enzima *Xba* I que corta o plasmídeo em dois fragmentos de 5500pb e 2900pb. O fragmento de 5500 pb que corresponde ao gene *ahas* é então cortado do gel e purificado para uso nos disparos. A purificação segue o protocolo de eletroeluição detalhado em Sambrook et al, 1989.

Seguindo uma programação de 1500 embriões/mês, os disparos são realizados duas vezes por semana (400 embriões/semana).

As primeiras plantas obtidas entre janeiro e abril/2001 apresentaram resultado negativo após ter sido testadas por PCR utilizando primers específicos para ampliação do gene *ahas*. Após abril de 2001, obtiveram-se mais de 300 plântulas possivelmente transformadas. Entretanto, em agosto de 2001, todas foram perdidas devido a problemas no controle de temperatura da câmara de crescimento. A grande maioria das plântulas estava bombardeada somente com os elementos para expressão do gene *ahas* extraído do plasmídeo. Como a Embrapa Cenargen havia cedido um possível evento elite com o gene *ahas* para o programa de melhoramento da Embrapa Soja, os trabalhos de transformação exclusivamente com o gene *ahas* foram suspensos após o incidente na câmara de crescimento.

Em meados de agosto, os disparos foram reiniciados com a utilização do plasmídeo contendo o gene *ahas* (pAC321) e o plasmídeo contendo os elementos para expressão do Hormônio Humano de Crescimento em sementes de soja (pFas GH). Nessa construção

nas em sementes de leguminosas. Os plasmídios têm sido utilizados inteiros e ao mesmo tempo, visando uma co-transformação dos embriões.

Até o momento, 11 plantas estão positivas para o gene *ahas* (Figura 1), dessas três também estão positivas para a presença da seqüência codante para o HGH (Figura 2).

Construções gênicas contendo os genes de insulina humana e hormônio de crescimento foram fornecidas à Embrapa Soja que, em parceria com a Embrapa Cenargen e a Unicamp, também estará transformando soja com esses genes. O laboratório também se encontra em negociação com outras instituições a fim de introduzir em soja genes que conferem tolerância à seca e ao alumínio.



Figura 1. Plantas de soja positivas para a inserção do gene *ahas*.

### Referências:

Aragão, F.J.L.; Sarokin, L.; Vianna, G.R.; Rech, E.L. (2000) Selection of transgenic meristematic cells utilizing a herbicidal molecule results in the recovery of fertile transgenic soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] plants at a high frequency. *Theor. Appl. Genet.*, 101:1-6.

Sambrook, J., E. F. Fritsch, and T. Maniatis. 1989. *Molecular cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Press, 2nd ed., Cold Spring Harbor, NY.

Sanford, J.C.; Klein, T.M.; Wolf, E.D.; Allen, N. (1987) Delivery of substances into cells tissues using a particle bombardment process. *Particle Science Technology* 5: 27-37.

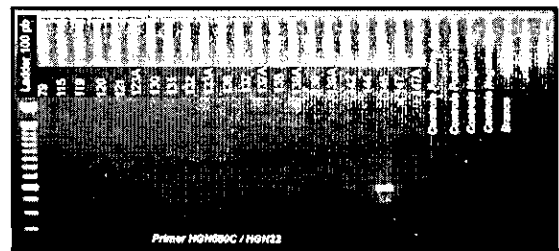


Figura 2. Plantas de soja positivas para a inserção do gene *HGH*.



## ZONEAMENTO DE RISCO CLIMÁTICO NO BRASIL

# 3

Nº do Projeto: 01.2000.051

Líder: Silvando Carlos da Silva

Nº de Subprojetos que compõem o Projeto: 01

### Unidades / Instituições Participantes:

O presente projeto tem por objetivo delimitar as áreas de menor risco climático às culturas do arroz, feijão, soja, milho e trigo, a partir da caracterização agroclimática das distintas regiões produtoras, em função das necessidades climáticas das culturas em questão. O projeto é composto por subprojetos que abrangem cada uma das culturas em estudo, com as ações sob responsabilidade dos respectivos centros de produto (Embrapa Arroz e Feijão, Embrapa Soja, Embrapa Milho e Sorgo e Embrapa Trigo). Além desses, participa do projeto a Embrapa Cerrados (responsável pelo subprojeto de caracterização agroclimática das regiões brasileiras). As atividades programadas dão continuidade ao projeto 04.0.94.065, encerrado em dezembro de 1999. O término deste novo projeto está previsto para 2002.

### 3.1. Caracterização da aptidão climática de regiões para o cultivo de soja no Brasil (01.2000.051-03)

José Renato Bouças Farias<sup>1</sup>, Ivan Rodrigues de Almeida<sup>1</sup>, Alexandre Lima Nepomuceno<sup>1</sup>, Norman Neumaier<sup>1</sup>, Antônio Garcia<sup>1</sup>, Marcos Valdemir Buche<sup>2</sup>, Carlos Eduardo Zampar<sup>3</sup>

A imprevisibilidade das variabilidades climáticas confere à ocorrência de adversidades climáticas o principal fator de risco e de insucesso na exploração da cultura da soja. O aumento de eficiência no uso de recursos e de insumos, a

melhora qualitativa dos produtos agrícolas e a preservação dos recursos naturais, são desafios da moderna agricultura. Ferramentas que venham a auxiliar à tomada de decisão são fundamentais para superar estes desafios e obter-se produtos competitivos e ambientalmente sustentáveis.

Definindo áreas menos sujeitas a riscos de insucessos devido à ocorrência de adversidades climáticas, o zoneamento agroclimático constitui-se numa tecnologia de fundamental importância em várias atividades do setor agrícola. Isto leva à exploração mais racional da cultura, bem como ao incremento da produção e da produtividade da soja, trazendo inúmeros reflexos positivos à

<sup>1</sup> Embrapa Soja

<sup>2</sup> Embrapa Arroz e Feijão

<sup>3</sup> Bolsista MAPA/FINATEC.

trazendo inúmeros reflexos positivos à economia e à sociedade brasileiras. Neste sentido o presente subprojeto tem por objetivo delimitar as áreas com maior aptidão climática para o desenvolvimento da cultura da soja, visando a obtenção de maiores rendimentos e menores riscos. Para isto estão sendo usados modelos de simulação do desenvolvimento da cultura, sistemas geográficos de informação e geoestatística, num trabalho envolvendo várias instituições (MAPA, FINATEC, EMBRAPA, ANEEL, INMET e IAPAR).

Foram realizados os zoneamentos agroclimáticos da cultura da soja para os estados de Goiás, Tocantins, Paraná, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Minas Gerais, região oeste da Bahia, sul do Maranhão, sul do Piauí e Distrito Federal, para duas cultivares hipotéticas de soja (precoce e tardia) e três tipos de solo por estado, definindo-se as áreas com maior ou menor probabilidade de ocorrência de déficit hídrico durante a fase mais crítica da cultura, caracterizadas como favoráveis, intermediárias e desfavoráveis, em função das diferentes épocas de semeadura, das disponibilidades hídricas de cada região, do consumo de água nos diferentes estádios de desenvolvimento da cultura, do tipo de solo e do ciclo da cultivar. Em todos os estados, com o emprego de modelos, foram feitas simulações do desenvolvimento da cultura para várias datas de semeadura (nove ou doze períodos de dez dias cada), as quais procuram englobar os períodos recomendados pela pesquisa. Para a espacialização dos resultados, cada valor de  $E_{Tr}/E_{Tm}$  (Evapotranspiração

Real/Máxima) observado durante a fase mais crítica ao déficit hídrico (R1-R6, pela escala de Fehr e Caviness (1977)), foi associado à localização geográfica da respectiva estação pluviométrica, para posterior elaboração dos mapas, utilizando-se um sistema de informações geográficas (SGI). Para definição das áreas de maior ou menor probabilidade de ocorrência de déficit hídrico na fase mais crítica, foram estabelecidas três classes, de acordo com a relação  $E_{Tr}/E_{Tm}$  obtida: favorável ( $E_{Tr}/E_{Tm} < 0,65$ ); intermediária ( $0,65 > E_{Tr}/E_{Tm} > 0,55$ ); e desfavorável ( $E_{Tr}/E_{Tm} < 0,55$ ). Posteriormente, para cada estado em estudo, foram elaborados 54 ou 72 mapas decorrentes da combinação de nove ou doze períodos de semeadura, três tipos de solo e duas cultivares. Foram rodadas, ao todo, cerca de 80.000 simulações, resultado da interação entre estações pluviométricas, cultivares, tipo de solo e datas de semeadura nos diferentes estados. Foram definidas as áreas com maior ou menor probabilidade de ocorrência de déficit hídrico durante a fase mais crítica da cultura, caracterizadas como favoráveis, intermediárias e desfavoráveis, em função das diferentes épocas de semeadura, das disponibilidades hídricas de cada região, do consumo de água nos diferentes estádios de desenvolvimento da cultura, do tipo de solo e do ciclo da cultivar. Na Fig.

3.1 são apresentados alguns exemplos de mapas obtidos para o estado de Goiás, onde cada mapa apresenta a classificação das diferentes áreas do estado para uma dada época de semeadura, em função do tipo de solo e da cultivar.

Em 2001, foram revisados, corrigidos e elaborados novas tabelas com as indicações das épocas de semeadura com menor probabilidade de risco à exploração da cultura da soja para os estados de Goiás, Tocantins, Paraná, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Minas

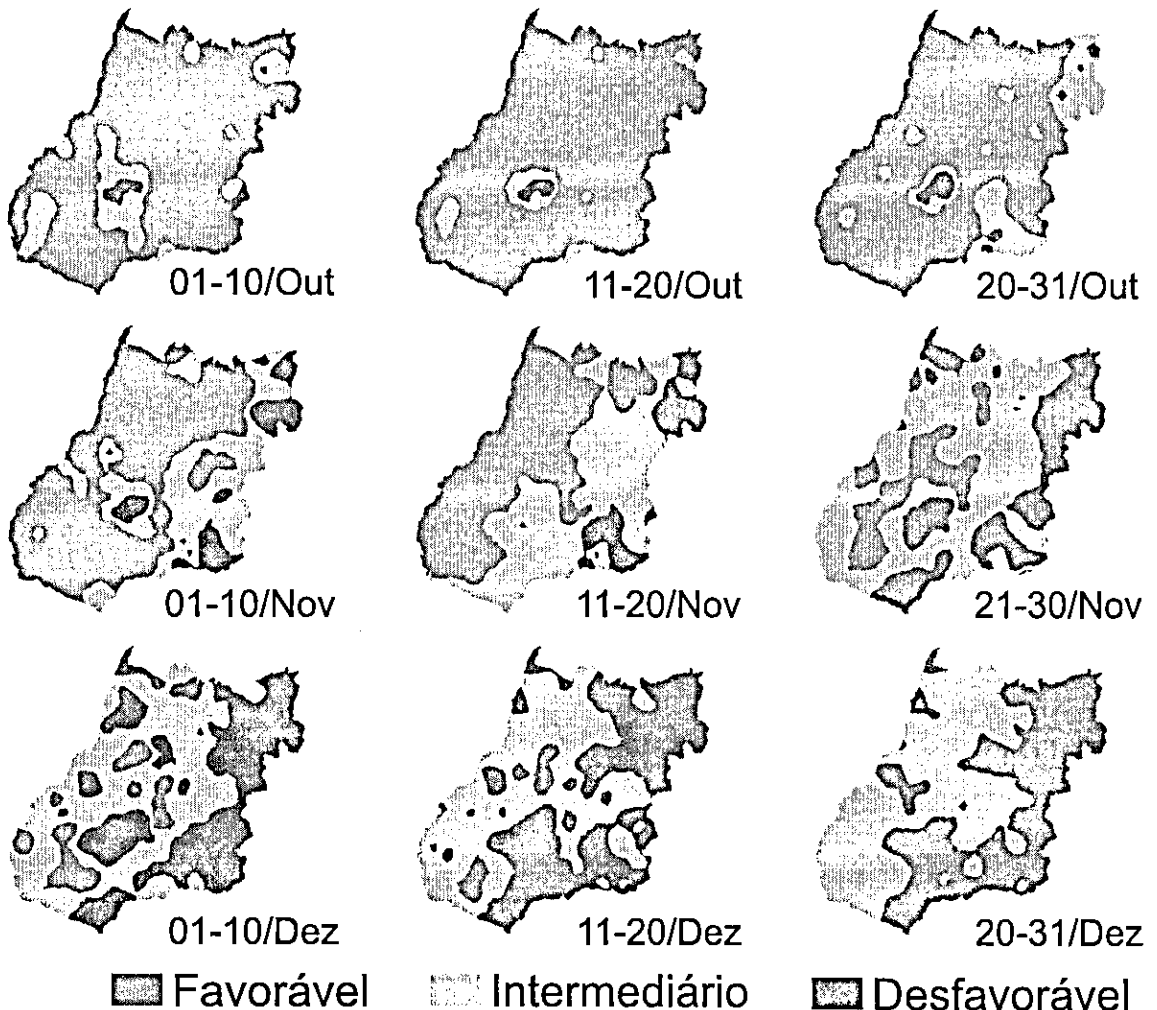


Fig. 3.1. Zoneamento agroclimático da cultura da soja, cultivar de ciclo tardio e solo de alta retenção de água, para nove épocas de semeadura, no estado do Goiás. Embrapa Soja, Londrina-PR, 2002.

Gerais, Bahia, Maranhão e Piauí, procurando fazer com que, cada vez mais, o trabalho expresse melhor a realidade observada a campo ao longo dos anos. As bases de dados agrometeorológicos foram revistas e atualizadas, realizando-se novas simulações e gerando informações mais precisas para os locais em que se verificou algum problema. Paralelamente, a fim de dar maior respaldo técnico e prático às indicações, procedeu-se a uma abrangente consulta a vários segmentos do setor produtivo da soja (cooperativas, órgãos de assistência técnica e produtores) do Paraná, a fim de identificar possíveis falhas ou discrepâncias em relação ao praticado a campo. Questionou-se, principalmente, quanto às indicações do primeiro decêndio de

outubro e o último de dezembro, uma vez que extrapolam as épocas de semeadura recomendadas pela pesquisa. A grande maioria dos consultados respondeu concordar com a permanência da indicação dos dois períodos uma vez que permitem maior folga às atividades de instalação das lavouras, permitindo antecipar a época de cultivo para favorecer a safrinha, comum em muitas regiões, bem como possibilitar a instalação de lavouras mais tardias quando ocorrem problemas que impedem a instalação das mesmas nas épocas mais apropriadas. Este trabalho necessita anualmente ser revisado e atualizado, para que expresse de forma mais atual possível a realidade verificada ao nível de campo.







---

***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária***  
***Centro Nacional de Pesquisa de Soja***

*Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*  
*Caixa Postal, 231 - CEP: 86001-970 - Londrina - Paraná*  
*Telefone: (43) 3371 6000 - Fax: (43) 3371 6100*

*<http://www.cnpso.embrapa.br> - E-mail: [sac@cnpso.embrapa.br](mailto:sac@cnpso.embrapa.br)*