



Diversidade genética entre cultivares de soja com base em marcadores morfológicos e moleculares

Lais Nóbrega Rodrigues ^a, Carlos Eduardo Pulcinelli ^b, Welison Andrade Pereira ^{a*}

^a Universidade Federal de Lavras, Brasil

^b Alliance One International

* Autor correspondente (welison.pereira@ufla.br)

INFO

Keywords

descriptors
genetic divergence
Glycine max
microsatellite
RAPD

ABSTRACT

Genetic diversity between soybean varieties based on morphological and molecular markers.

Brazil stands as a global leader in soybean production, a crop of critical importance due to the increasing demand for food, feed, and bioenergy. In this context, the development of high-yielding and adapted cultivars depends heavily on a comprehensive understanding of the genetic diversity available within breeding materials. The absence of accurate information regarding divergent groups may hinder the identification of superior parental combinations, thereby limiting genetic gains and compromising the success of breeding programs. This study aimed to evaluate the genetic diversity among 20 commercial soybean cultivars by estimating genetic distances based on 17 morphological descriptors, 39 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) markers, and 39 microsatellite (SSR) markers. Morphological traits were assessed under field conditions throughout the crop cycle, while leaf samples were collected at the V3 growth stage for DNA extraction and subsequent molecular analysis. Genetic relationships among cultivars were inferred using Tocher's optimization method and hierarchical clustering through the UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) algorithm. The analyses revealed considerable genetic variability among the cultivars, allowing for the identification of divergent groups based on both morphological and molecular data. Notably, cultivars M 5705 IPRO, M 7739 IPRO, and M 8210 IPRO exhibited the greatest genetic divergence and are potential candidates for future hybridization strategies. The use of morphological descriptors proved effective for distinguishing among cultivars and provides a practical basis for diversity analysis in field conditions. When combined with molecular markers, the precision and reliability of the genetic inferences were significantly enhanced, reinforcing the value of integrating phenotypic and genotypic tools in soybean breeding programs.

RESUMO

Palavras-chaves

descritores
divergência
Glycine max
microsatélite
RAPD

O Brasil se destaca como líder global na produção de soja, uma cultura de importância crítica devido à crescente demanda por alimentos, rações e bioenergia. Nesse contexto, o desenvolvimento de cultivares adaptadas e de alto rendimento depende fortemente de uma compreensão abrangente da diversidade genética disponível nos materiais de melhoramento. A ausência de informações precisas sobre grupos divergentes pode dificultar a identificação de combinações parentais superiores, limitando os ganhos genéticos e comprometendo o sucesso dos programas de melhoramento. Este estudo teve como objetivo avaliar a diversidade genética entre 20 cultivares comerciais de soja, por meio da estimativa de distâncias genéticas com base em 17 descritores morfológicos, 39 marcadores RAPD e 39 microsatélites. As características morfológicas foram avaliadas em condições de campo ao longo do ciclo da cultura, enquanto amostras de folhas foram coletadas no estágio de crescimento V3 para extração de DNA e posterior análise molecular. As relações genéticas entre as cultivares foram inferidas utilizando o método de otimização de Tocher e a análise de agrupamento hierárquico pelo algoritmo UPGMA. As análises revelaram considerável variabilidade genética entre as cultivares, permitindo a identificação de grupos divergentes com base tanto nos dados morfológicos quanto nos moleculares. Notavelmente, as cultivares M 5705 IPRO, M 7739 IPRO e M 8210 IPRO apresentaram a maior divergência genética, sendo potenciais candidatas para estratégias futuras de hibridação. O uso de descritores morfológicos mostrou-se eficaz para distinguir entre as cultivares e fornece uma base prática para análises de diversidade em condições de campo. Quando combinados com marcadores moleculares, a precisão e a confiabilidade das inferências genéticas foram significativamente ampliadas, reforçando o valor da integração de ferramentas fenotípicas e genotípicas em programas de melhoramento da soja.



INTRODUÇÃO

A produção de soja no Brasil tem apresentado crescimento contínuo, impulsionado principalmente pelo desenvolvimento de variedades adaptadas às diferentes regiões de cultivo. Estas variedades, caracterizadas por altos rendimentos e resistência às principais ameaças fitossanitárias, compõem um fator crucial no cenário desse desenvolvimento sustentado (Bizari et al., 2017; Seixas et al., 2020). A relevância socioeconômica da soja ultrapassa as fases de plantio e colheita, manifestando-se em um complexo agroindustrial que abrange diversas aplicações ao longo da cadeia produtiva (Val et al., 2014; Castro et al., 2015). Em um cenário agrícola tão importante para o mundo, novas cultivares são desenvolvidas e lançadas anualmente no mercado, provenientes dos programas de melhoramento de soja, sempre visando solucionar limitações pontuais, sejam elas reais ou potenciais, relacionadas aos fatores bióticos e abióticos, que trazem prejuízos à produção (MAPA, 2023). Dessa forma, as variedades de cultivo devem apresentar alta produtividade, estabilidade de produção e ampla adaptabilidade às diferentes condições edafoclimáticas existentes nas regiões para as quais são recomendadas (Cabral et al., 2020; Cerutti et al., 2020). No melhoramento genético da soja, assim como para outras culturas, utiliza-se de estratégias que visam ampliar a variabilidade genética por meio das hibridações (Carvalho e Mambrin, 2022). Diante deste princípio, ao cruzar genótipos com alto grau de similaridade, obtém-se populações segregantes com pouca variabilidade, levando a um menor aproveitamento da variabilidade genética disponível (Ferreira Júnior et al., 2015), enquanto o oposto é verdadeiro. No Brasil, estudos têm mostrado que a diversidade genética entre cultivares de soja é limitada, com grande parte delas derivadas de poucas linhagens ancestrais, o que aumenta a vulnerabilidade da planta a pragas e a estresses ambientais (Gwinner et al., 2017; Wymierski e Vello, 2017). Neste contexto, estudos sobre a diversidade genética são comumente necessários para os programas de melhoramento, uma vez que permitem ao melhorista acessar informações acerca da divergência genética entre potenciais genitores, logo, possibilitando o melhor direcionamento para cruzamentos futuros e a sustentabilidade de ganhos genéticos a longo prazo. A diversidade genética da soja tem sido avaliada por meio das distâncias genéticas estimadas a partir de marcadores

morfológicos, os quais consistem em características fenotípicas que podem ser coletadas sobre diferentes aspectos da planta em diferentes estádios de seu desenvolvimento. Do mesmo modo, marcadores moleculares tornaram-se indispensáveis para este fim, sendo exemplos os marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) e os microssatélites (Hamid et al., 2017; Kachare et al., 2020). É notável como os marcadores moleculares mostram-se relativamente vantajosos na distinção de cultivares sobre os caracteres morfológicos, por serem independentes das condições ambientais e por permitirem acesso à diversidade genética existente entre os genótipos em nível de DNA, não sendo necessária, portanto, a espera por algum estágio específico da planta, ou até mesmo o ciclo completo (Gwinner et al., 2017; Kumar et al., 2022). Em estudos sobre diversidade genética, sejam eles realizados por meio de marcadores morfológicos ou moleculares, constitui parte do processo a organização de grupos com maior divergência genética entre os grupos e menor divergência dentro dos grupos, os quais permitam uma classificação do germoplasma em pools genéticos, a fim de simplificar a escolha de genitores para futuras hibridações (Sousa et al., 2020). É essencial que os grupos formados apresentem homogeneidade interna e heterogeneidade entre si. Diante desse contexto, no presente trabalho demonstrou-se a existência de diversidade genética entre 20 cultivares comerciais, organizando-as em grupos relativamente divergentes, o que favorece a seleção de genitores potenciais para programas de melhoramento genético com diferentes finalidades.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionadas 20 cultivares comerciais de soja, provenientes de diferentes programas de melhoramento (Tabela 01). O experimento foi conduzido em campo, no Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Agropecuária da Universidade Federal de Lavras (21°12'05''S e 44°58'51''O), e complementado no Laboratório de Genética Molecular, do Departamento de Biologia, desta mesma Universidade. Para avaliação dos marcadores morfológicos, utilizou-se o delineamento experimental em blocos casualizados (DBC) com três repetições, sendo cada parcela formada por 4 linhas de 5 metros e densidade de plantio de 13 sementes por metro linear.

Tabela 01 - Cultivares de soja, seus obtentores e ano de lançamento.

Nº	Cultivar	Obtentor	Ano	Nº	Cultivar	Obtentor	Ano
1	6160 RSF IPRO	GDM	2012	11	M 6410 IPRO	D&PL	2011
2	8473 RSF RR	GDM	2011	12	M 7739 IPRO	D&PL	2012
3	AS 3590 IPRO	D&PL	2016	13	M 8210 IPRO	D&PL	2011
4	AS 3680 IPRO	D&PL	2014	14	NS 7300 IPRO	SYNGENTA	2012
5	BMX Potência RR	GDM	2007	15	P95R51 RR	PIONEER	2011
6	BRS 1003 IPRO	EMBRAPA	2014	16	P97R73 RR	PIONEER	2013
7	BRS 1074 IPRO	EMBRAPA	2015	17	ST 721 IPRO	BASF S/A	2018
8	INT 7100 IPRO	CEI LTDA	2017	18	SYN 15640 IPRO	SYNGENTA	2015
9	M 5705 IPRO	D&PL	2014	19	TMG 7067 IPRO	TMG S/A	2016
10	M 6210 IPRO	D&PL	2011	20	TMG 7262 RR	TMG S/A	2011

BASF S/A = Badische Anilin- und Soda-Fabrik S/A; CEI LTDA = Centro Educacional Integrado LTDA; D&PL = Delta and Pine Land Company Brasil LTDA; EMBRAPA = Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária; GDM = Grupo Don Mario Genética do Brasil S.A.; PIONEER = Dupont do Brasil S/A – Divisão Pioneer Sementes; SYNGENTA = Syngenta Seeds LTDA; TMG S/A = Tropical Melhoramento e Genética S/A.

Os descritores morfológicos analisados são recomendados pela International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV) e pelo Serviço Nacional de Proteção de cultivares (SNPC) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil. Ao todo, foram utilizadas 17 características. No estágio de plântula (considerando o estágio VC), foi avaliada a presença de antocianina no hipocótilo (presente/ausente) e, quando presente, sua intensidade de pigmentação. Em nível de planta, foram analisados, nos estádios R3 e R8, o tipo de crescimento (determinado, semi-determinado ou indeterminado) o hábito de crescimento (ereto, ereto para semi-ereto, semi-ereto, semi-ereto para horizontal ou horizontal), a cor da pubescência no terço médio da haste principal (cinza, marrom clara ou marrom média), a intensidade da pubescência (baixa, média ou alta) e a altura desde a base até o ápice utilizando uma fita métrica graduada em centímetros. Referente à folha, foram avaliadas, no estágio R2, a rugosidade (ausente ou muito fraca, fraca, média, forte ou muito forte), forma do folíolo lateral (lanceolada estreita, lanceolada, triangular, oval-pontiaguda ou oval-arredondada), tamanho do folíolo lateral (pequena, média ou grande) e intensidade da cor verde (clara, média ou escura). Quanto à flor, avaliou-se a cor (branca ou roxa) no estágio R2, e quanto aos legumes, avaliou-se a cor da pubescência (cinza clara, cinza escura, marrom clara, marrom média ou marrom escura) e sua intensidade (clara, média ou escura) no

estádio R8. Em referência à duração do ciclo vegetativo, avaliou-se o tempo de maturação (precoce, semi-precoce, médio, semi-tardio ou tardio). Em relação à semente (avaliação na pós-colheita), utilizou-se o Groundeye® System para capturar e analisar os valores médios das variáveis cor e geometria.

A extração do DNA de folhas jovens foi realizada por meio da adaptação do protocolo proposto por Dellaporta et al. (1983). No que se refere às PCRs com os 39 marcadores RAPD (Tabela 02), foram utilizados termocicladores programados a 94 °C por 3 minutos, para a desnaturação inicial do DNA, seguida de 40 ciclos de 94 °C por 45 segundos, 35 °C por 50 segundos, e 72 °C por 1 minuto e 30 segundos. Por fim, uma etapa adicional a 72 °C por dez minutos para a extensão final das cadeias, seguida pela sua manutenção a 4°C até a aplicação em gel de eletroforese 1 %, quando os produtos da amplificação foram analisados. Para os 39 marcadores microssatélites a programação do termociclador consistiu em uma etapa inicial de desnaturação a 95°C por 3 minutos, seguida por 35 ciclos de 94 °C por 45 segundos, 50 segundos sob temperatura adequada para cada *primer* (Tabela 02), e 72°C por 1 minuto para o alongamento dos produtos da PCR. Por fim, uma etapa adicional, a 72 °C por dez minutos para a extensão final, e sua manutenção a 4 °C até a sua aplicação em gel de eletroforese 2%, quando os produtos da amplificação foram analisados.

Tabela 02 – Marcadores moleculares dos tipos microssatélites e RAPDs, suas sequências Forward e Reverse, e suas respectivas temperaturas de anelamento na reação (Tm). Os primers que resultaram em polimorfismo estão marcados com asterisco (*).

Marcadores Microssatélites								
Primer	Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')	°C					
Sat085*	GGTTTTAGATCCTTAAATTTGT	GGGGAAGCAAGTAGCT	53					
Sct034	AATTCTCACTCTCACAAC TTC	CCATGGAATAGTTGGGT	53					
Stt009*	TGGTAAAGGAGGAACTT	AGAATGTGCTGATGACA	53					
Stt012*	GCAATTAGTTTTAAAATGTTTC	AGAATAGAGCCTACATATAATCATA	53					
Stt052*	GAATAAAATTAGGATAAGTGATAAG	ACAGAAAAAAGAAAATGTCA	53					
Stt076	TAATCGAGATTTAATAGAAAACA	TGGATGGACATTTTCAG	53					
Stt137	TAACCAAAGAGTTCCCAATAAA	CCTCAAATTAACCTTGTCTCAC	55					
Stt146*	AAGGGATCCCTCAACTGACTG	GTGGTGGTGGTGAAAAC TATTAGAA	55					
Stt150*	AAGCTTGAGGTTATTCGAAAATGAC	TGCCATCAGGTTGTGTAAAGTGT	55					
Stt162*	GGGAAGAAGTATATGCTACATCAA	GGGAAGAAGTATATGCTACATCAA	53					
Stt168*	CGCTTGCCCAAAAATTAATAGTA	CCATTCTCCAACCTCAATCTTATAT	55					
Stt200*	GCGATAAATGGTTAATGTAGATAA	GCGAAAGGACAGATAGAAAAGAGA	53					
Stt222	GCGTGTTTTGTGAA(AAT) ₃ TAAAGATG	GCGCCACAAGTAACTAATGTAATAGGTGTT	55					
Stt225	AAAAATGTGTTAGAGCTTGTGTTGTTA	GCCACACTATTCCAGCCACTAC	55					
Stt239*	GCGCCAAAAATGAATCACAAT	GCGAACACAATCAACATCCTTGAAC	55					
Stt241*	GCGCTTGGTCTAAGAAAACTTTTGGT	GGGGGTTTTATCTCTTAAATGTG	55					
Stt251	CCTCCACCCCTTCCCACCCAAAA	GGTGATATCGCGCTAAAATTA	52					
Stt270*	TGTGATGCCCTTTTCT	GCGCAGTGCATGGTTTTCTCA	52					
Stt277*	GGTGGTGGCGGGTACTATTACT	CCACGCTTCAGTTGATTCTTACA	55					
Stt280*	GCGGAATCTGCTTATTCATTGTGTG	GCGCCATGCTGTAACACGTCAAT	55					
Stt302*	GCGAACTGTAGTTTACT(A) ₃ TAAGTG	GCGGACTGAATTAATATTGGTGTGTAATT	55					
Stt338*	GCGCCCAAGTATTATGAGATATTGAT	GCGATAATTTTAAACACTGGACCA	55					
Stt339	TAATATGCTTTAAGTGGTGTGGTTATG	GTTAAGCAGTTCCTCTCATCACG	55					
Stt342	GGTGCAAGGGAAAAATGGAAATAA	GATACAACGTCGTGCTACTATCCAAATA	55					
Stt345*	CCCCTATTTCAAGAGAATAAGGAA	CCATGCTCTACATCTTCATCATC	55					
Stt358*	GCGGCGCTTTATGTAACAATACGATTT	GCGAGTAAAAGCAGAGTGCGGAGTA	55					
Stt369*	AACATCCAAAGAAATGTGTTACAA	GCGAGTTCGAATTTCTTTTCAAGT	55					
Stt384*	TGGGGGTCAATTTTAATTTGTGC	ATTTCCCTTTCACCCACCTCTGTTT	55					
Stt386*	GCGGATGATTTTTATAGAATAGATAAT	CTTCGTTGATACCTCAGTAGATACAAA	53					
Stt390	AGTGGCTGATAAAAAAATACTCA	ATAATCGCGGCACAATAATTC	52					
Stt471	GCGCCCAAACTATCTAGTAATTCTT	GGGCTATCAAATTGACTAAAGCCAAA	55					
Stt475	AAATGCAACTTACACAAC TTTAT	TGCTTGCTTCAATTTGGATGAGTG	53					
Stt476*	TTTGCTGATTAACAAAAACAAAACTG	TTGTTAGAATGGGGACTACTTCACTA	53					
Stt509*	GCGCTACCGTGTGGTGGTGTGCTACCT	GCGCAAGTGGCCAGCTCATCTATT	53					
Stt513*	GCGCATCACAAGTTTATAGATGCTGA	GAGGTCTAGTGCTTTGGTAAGGTT	55					
Stt520	GCGGTGTGCAAGAGTGACA	GCGCATTGGACTTTCTA	53					
Stt542	CACCAGCAGAACAAATCATTT	CACGGTCTAACCTTTCTTCTA	55					
Stt553	GCGCCTTCTGTTCCATCACAGAT	GCGGCTTGTGAAACTGGCTGATTAT	55					
Stt567	GGCTAACCCGCTCTATGT	GGGCCATGCACCTGCTACT	55					
Marcadores RAPD								
OPA-01*	CAGGCCCTTC	35	OPA-15	TTCCGAACCC	35	OPB-17	AGGGAACGAG	35
OPA-02	TGCCGAGCTG	35	OPA-17*	GACCGCTTGT	35	OPB-18*	CCACAGCAGT	35
OPA-03	AGTCAGCCAC	35	OPA-18	AGGTGACCGT	35	OPB-19*	ACCCCCGAAG	35
OPA-04*	AATCGGGCTG	35	OPA-19	CAAACGTCGG	35	OPB-20	GGACCCTTAC	35
OPA-05*	AGGGGTCTTG	35	OPA-20	GTTGCGATCC	35	OPC-01	TTCGAGCCAG	35
OPA-06*	GGTCCCTGAC	35	OPAL-13	GAATGGCACC	35	OPC-02*	GTGAGGCGTC	35
OPA-08	GTGACGTAGG	35	OPB-02*	TGATCCCTGG	35	OPC-03*	GGGGGTCTTT	35
OPA-09	GGGTAACGCC	35	OPB-03*	CATCCCCCTG	35	OPC-07*	GTCCCGACGA	35
OPA-10	GTGATCGCAG	35	OPB-04*	GGACTGGAGT	35	OPC-10*	TGTCTGGGTG	35
OPA-11	CAATCGCCGT	35	OPB-09*	TGGGGGACTC	35	OPC-11	AAAGCTGCGG	35
OPA-12*	TCGGCGATAG	35	OPB-10*	CTGCTGGGAC	35	OPC-14	TGCGTGCTTG	35
OPA-13	CAGCACCCAC	35	OPB-11*	GTAGACCCGT	35	OPC-15*	GACGGATCAG	35
OPA-14*	TCTGTGCTGG	35	OPB-16*	TTTGCCCGGA	35	OPC-16*	CACACTCCAG	35

Fonte: Gwinner et al., 2017 e Coleção de Marcadores RAPD do Laboratório de Genética Molecular da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Análise de dados

A matriz de dissimilaridade para os descritores

morfológicos foi obtida a partir da média entre as matrizes de dissimilaridade dos dados quantitativos e qualitativos multicategóricos. Para os descritores

quantitativos, a matriz foi gerada com base na distância de Mahalanobis (Mahalanobis, 1936). Já para os descritores qualitativos, as diferentes categorias foram convertidas em valores numéricos, permitindo a construção de uma matriz de dissimilaridade. Esta matriz foi criada utilizando um índice que considera a concordância e discordância entre categorias, refletindo a porcentagem de coincidência de dissimilaridade ao avaliar os diversos parâmetros morfológicos.

Os fragmentos amplificados pelos marcadores do tipo RAPD foram codificados em um sistema binário, utilizando 1 para presença e 0 para ausência. Estas informações foram submetidas à estimativa de dissimilaridade entre cada par de genótipos por meio do complemento aritmético do coeficiente de Jaccard. Os fragmentos amplificados pelos marcadores do tipo microssatélites foram codificados por uma representação genotípica em função do número de alelos por loco, estimando-se a dissimilaridade em função do número de alelos comuns por loco, por meio do complemento aritmético do índice de similaridade ponderado.

As matrizes de distância foram utilizadas para realizar as análises multivariadas pelos métodos de agrupamento de otimização (Tocher) e hierárquico

(UPGMA). Realizou-se ainda a análise da qualidade da representação gráfica das matrizes de dissimilaridade nos dendrogramas, por meio do teste de Mantel (1967), com base em 1000 replicações. Além disso, foi realizada uma análise de *bootstrap* com 1000 reamostragens, com a finalidade de avaliar a robustez e a estabilidade dos agrupamentos gerados nos dendrogramas obtidos pelo método UPGMA. As análises foram realizadas com o auxílio do software estatístico GENES (Cruz, 2016).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as medidas de dissimilaridade obtidas a partir dos 17 descritores morfológicos, observou-se amplitude de 1,03 a 9,91 (Figura 01), indicando variabilidade genética entre as 20 cultivares de soja. Em comparação, Vieira et al. (2009) obtiveram amplitude de 0,30 a 0,73 nas medidas de dissimilaridade de 10 cultivares de soja por meio de descritores morfológicos. Essa comparação destaca a capacidade que os descritores morfológicos têm em estimar a diversidade genética, e ressalta as diferenças na variabilidade entre as cultivares de soja avaliadas em estudos distintos (Martin et al., 2022).

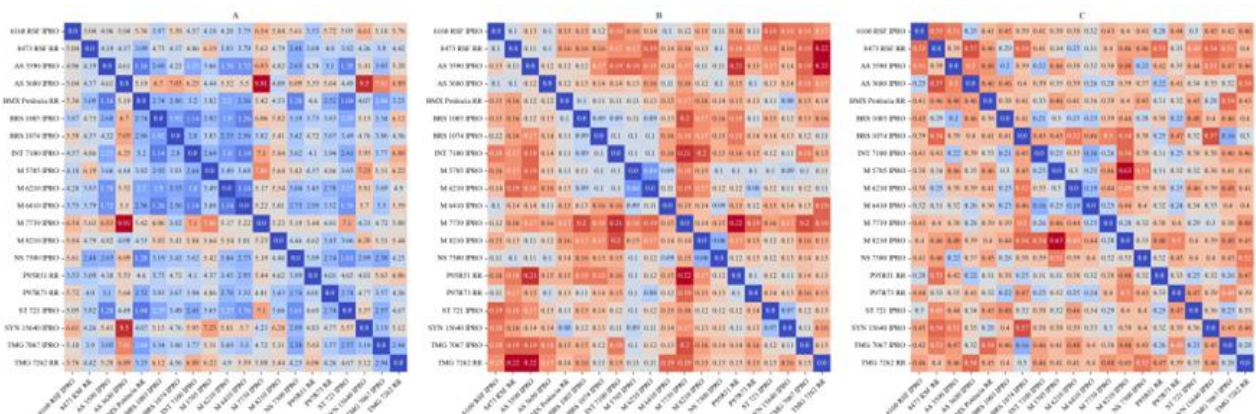


Figura 01 - Matrizes de dissimilaridade entre 20 cultivares de soja de acordo com os descritores morfológicos, marcadores RAPD e marcadores microssatélites. Os valores encontram-se associados a diferentes cores que variam do azul (valores menores) ao vermelho (valores maiores).

Os menores valores de dissimilaridade foram observados entre os pares de cultivares BMX Potência e ST 721, M 6210 e M 6410, BRS 1003 e INT 7100, INT 7100 e M 6410, e AS 3590 e BMX Potência (Figura 01). Estes dados indicam que estas são cultivares menos dissimilares quanto aos descritores morfológicos. É plausível assumir que genótipos que exibem distâncias genéticas próximas tendem a possuir uma quantidade significativa de alelos em comum (Singh et al., 2022). Portanto, caso sejam inter cruzados, apresentam potencial limitado em oferecer complementariedade, o que resulta em uma probabilidade maior de gerar uma população

segregante com menor variabilidade (Cruz et al., 2020). Por outro lado, foram obtidas maiores distâncias genéticas entre os seguintes pares de cultivares: AS 3680 e M 7739, AS 3680 e SYN 15640, AS 3680 e TMG 7067, e M 5705 e M 7739. Maiores valores indicam divergência genética e expectativa de maior variabilidade genética (Rigon et al., 2012). Ao cruzar genitores de características contrastantes, espera-se que a população segregante apresente maior variabilidade. Isso decorre da maior probabilidade de combinações mais divergentes em função do maior número de alelos dife-

rentes e, assim, tornar provável a rearranjo dos alelos de maneira favorável (Cox et al., 1985; Kachare et al., 2020).

A matriz de dissimilaridade dos descritores morfológicos foi utilizada para realizar a análise de agrupamento pelo método de otimização de Tocher, a qual resultou na formação de 7 grupos, assim distribuídos: 12 cultivares (60 %) no grupo 1; 2 cultivares (10 %) no grupo 2; 2 cultivares (10 %)

no grupo 3; e 1 cultivar (5 %) nos grupos 4, 5, 6 e 7 (Tabela 03). Estes resultados mostram que as distâncias genéticas estimadas a partir dos descritores morfológicos foram capazes de distinguir as cultivares, uma vez que houve formação de grupos. Vilela et al. (2014) obteve a formação de 7 grupos para as 74 cultivares de soja RR estudados pelo método de Tocher ao estudar a diversidade por meio de caracteres agronômicos.

Tabela 03 - Agrupamento de 20 cultivares de soja pelo método de otimização de Tocher com base em 17 descritores morfológicos, 22 marcadores RAPD e 24 marcadores microsatélites.

Grupos		Cultivares
Morfológicos	1	BMX Potência, ST 721, AS 3590, NS 7300, M 6410, M 6210, BRS 1003, INT 7100, BRS 1074, TMG 7067, P97R73 e 8473 RSF
	2	6160 RSF e P95R51
	3	AS 3680 e M 8210
	4	M 5705
	5	TMG 7262
	6	M 7739
	7	SYN 15640
RAPD	1	M 5705, M 6210, P97R73, BRS 1003, BRS 1074, INT 7100, BMX Potência, SYN 15640 e ST 721
	2	M 8210, NS 7300, AS 3680, 8473 RSF, 6160 RSF, M 6410 e AS 3590
	3	M 7739
	4	P95R51
	5	TMG 7067
	6	TMG 7262
Microsatélites	1	BRS 1074, TMG 7067, P95R51 e ST 721
	2	INT 7100, M 6410, BRS 1003, P97R73 e M 6210
	3	AS 3590 e NS 7300
	4	6160 RSF e AS 3680
	5	BMX Potência e SYN 15640
	6	M 7739 e M 8210
	7	8473 RSF
	8	TMG 7262
	9	M 5705

O dendrograma obtido a partir da análise de agrupamento hierárquico (UPGMA), cujo corte significativo foi realizado em 50,31 % de dissimilaridade, formou quatro grupos (Figura 02). Os grupos 1 e 2 foram compostos por 2 cultivares cada, enquanto os grupos 3 e 4 foram constituídos por 1 e 15 cultivares, respectivamente. A correlação co-

fenética foi de 0,80, significativo a 1 % de probabilidade pelo teste de Mantel, enquanto o grau de distorção foi de 4,28 %. Machado et al. (2017) avaliaram 24 genótipos de soja para características agronômicas e obtiveram quatro grupos adotando o ponto de corte de 40 % de dissimilaridade e coeficiente de correlação de 0,80.

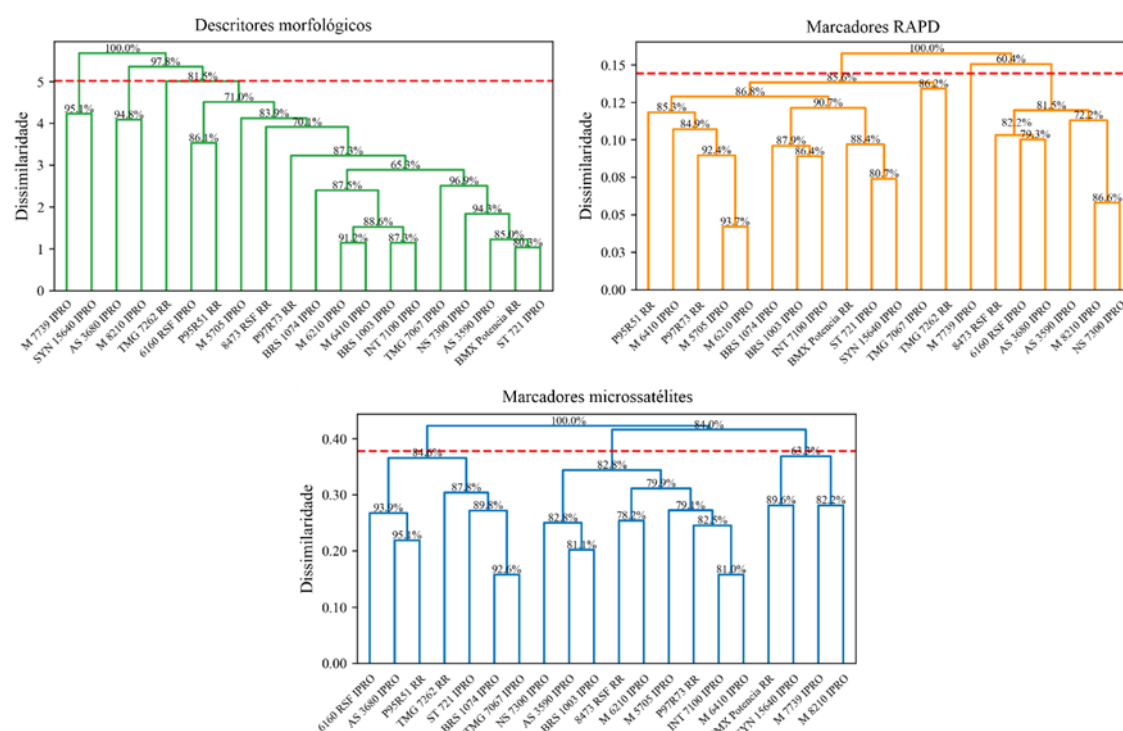


Figura 02 - Dendrogramas gerados pelo método UPGMA e valores da análise de bootstrap para avaliação de 20 cultivares de soja, utilizando descritores morfológicos e marcadores RAPD e microssatélites.

A correlação cofenética consiste na correlação da matriz de distâncias originais com a matriz de distâncias geradas graficamente a partir do dendrograma, e fornece informações sobre a consistência do agrupamento (Cargnelutti Filho et al., 2010). Segundo Cruz et al. (2012), coeficientes de correlação cofenética de 0,70 são considerados indicadores suficientes, de bom ajuste entre a representação gráfica e sua matriz original. Quanto maior o valor da correlação, menor será a distorção provocada pelo agrupamento. De acordo com Cruz et al. (2020), valores de distorção inferiores a 20 % são satisfatórios para a representação gráfica do dendrograma.

Os descritores morfológicos são uma ferramenta valiosa na avaliação da diversidade genética, fornecendo uma abordagem fenotípica e prática para entender as características das plantas. Sua importância reside na capacidade de traduzir informações genéticas em características visíveis e, assim, contribuir significativamente para o desenvolvimento de cultivares mais adaptadas e produtivas. Estas contribuições podem ser observadas em diversos estudos envolvendo diferentes culturas, como o feijão e a fava (Kloster et al., 2011; Souza et al., 2024), o que também contribui para a conservação e manejo de recursos genéticos.

Dos 39 marcadores RAPD utilizados, todos resultaram em fragmentos amplificados, sendo 22 (56,41 %) polimórficos. Para a análise foram consideradas apenas as marcas de melhor qualidade e

visualização dos produtos de amplificação. As medidas de dissimilaridade para os marcadores RAPD se apresentaram no intervalo de 0,04 a 0,22 (Figura 01), permitindo a formação de grupos pelos métodos de agrupamento utilizados. Os menores valores de dissimilaridade foram identificados entre as cultivares M 5705 e M 6210, M 8210 e NS 7300, e M 6210 e P97R73. Já os maiores valores de dissimilaridade foram entre as cultivares: 8473 RSF e TMG 7262, M 7739 e P95R51, AS 3590 e TMG 7262, e INT 7100 e M 7739.

De acordo com os marcadores RAPD considerados para análise, seis grupos foram formados pelo método de otimização de Tocher. O primeiro foi formado por 9 cultivares (45 %), o segundo por 7 cultivares (35 %) e os grupos 3, 4, 5 e 6 foram formados por uma cultivar cada (5 %) (Tabela 03). Pelo método UPGMA, três grupos foram formados, adotando um corte significativo em 14,42 % de dissimilaridade (Figura 02).

O primeiro grupo constituiu-se de 13 cultivares, enquanto o segundo e terceiro grupos foram compostos por 1 e 6 cultivares, respectivamente. O coeficiente de correlação cofenética, significativo a 1 % de probabilidade pelo teste de Mantel foi de 65,43 %. Mesmo com a formação de grupos compostos por diferentes cultivares, pode-se observar que a cultivar M 7739 apresentou-se isolada das demais cultivares, tanto pelo método de Tocher como pelo método UPGMA.

Dos 39 marcadores microssatélites utilizados, 39 resultaram em fragmentos amplificados e, destes, 24 (61,54 %) foram polimórficos. Para estes marcadores, a dissimilaridade entre os pares de cultivares foi estimada pelo complemento aritmético do índice de similaridade ponderado. As medidas de dissimilaridade variaram de 0,16 a 0,63 (Figura 01), demonstrando que há variabilidade genética entre as cultivares de soja para os marcadores microssatélites avaliados. As menores medidas de dissimilaridade foram observadas entre os pares de cultivares BRS 1074 IPRO e TMG 7067 IPRO, e INT 7100 IPRO e M 6410 IPRO. A maior medida de dissimilaridade foi detectada para as cultivares M 5705 IPRO e M 8210 IPRO.

A análise de agrupamento pelo método de otimização de Tocher formou 9 grupos, distribuídos em: 4 cultivares (20 %) no grupo 1, 5 cultivares (25 %) no grupo 2, 2 cultivares (10 %) nos grupos 3, 4, 5 e 6 e 1 cultivar (5 %) nos grupos 7, 8 e 9 (Tabela 03).

O método de agrupamento UPGMA gerou um dendrograma com um corte significativo em 37,78 % de dissimilaridade (Figura 02), formando três grupos, formados por 7, 9 e 4 cultivares, respectivamente. O coeficiente de correlação cofenética foi de 63,38 %, significativo a 1 % de probabilidade pelo teste de Mantel. Como uma deliberação a partir dos resultados, o cruzamento entre as cultivares dos grupos 1 e 3 poderiam ser sugeridos. Certamente, a definição exata dos pares dependeria de outros fatores, tais como considerações sobre características desejáveis para um objetivo específico.

Após as análises de agrupamento utilizando os descritores morfológicos e moleculares, foi possível constatar que as cultivares M 5705 IPRO, M 7739 IPRO e M 8210 IPRO são as mais divergentes geneticamente em relação às demais. O isolamento das cultivares das demais indica potenciais genitores, como exposto por Arriel et al. (2006).

Os agrupamentos revelaram padrões distintos de divergência genética entre genótipos provenientes de diferentes obtentores. Em alguns casos, observou-se que genótipos de obtentores distintos exibiram uma notável semelhança genética, indicando menor divergência. Essa convergência genética pode ser atribuída a fatores específicos, tais como estratégias de melhoramento similares ou pressões seletivas comuns em ambientes de cultivo específicos (Mato et al., 2006). Por outro lado, também pôde-se identificar divergências acentuadas entre genótipos originários do mesmo obtentor, sugerindo influências variadas de métodos de seleção, fontes de germoplasma divergentes ou adaptações específicas a diferentes condições ambientais, como também observado por Rodrigues et al. (2017). Essa complexidade na diversidade genética

destaca a interação multifatorial que molda as características genéticas dos genótipos de soja, mostrando que a divergência não é apenas uma função do germoplasma da instituição obtentora, mas, também resultado das estratégias de melhoramento e às pressões seletivas aplicadas durante a condução das populações segregantes (Oda et al., 2015).

A utilização de descritores morfológicos e marcadores moleculares, para avaliar a diversidade genética entre genótipos, desempenha um papel fundamental no avanço dos programas de melhoramento genético de plantas, proporcionando perspectivas mais abrangentes e integradas. O uso de descritores morfológicos e marcadores moleculares em conjunto oferece a vantagem de permitir a análise simultânea de múltiplas informações, consolidando uma visão mais completa da diversidade genética existente. Isso é especialmente valioso em programas de melhoramento, onde a escolha de genitores divergentes é crucial para a obtenção de descendência com características desejadas. Ao unificar informações morfológicas e moleculares, os pesquisadores e melhoristas podem identificar genótipos que não apenas exibem diferenças visíveis, mas que também possuem variações genéticas mais sutis que podem ser fundamentais para o sucesso do programa de melhoramento.

CONCLUSÕES

As vinte (20) cultivares de soja analisadas neste estudo apresentam diversidade genética, comprovada pelos agrupamentos formados, independentemente dos três métodos de análise empregados. As cultivares M 5705 IPRO, M 7739 IPRO e M 8210 IPRO se destacaram pelo seu potencial de serem utilizadas em cruzamentos com as demais, uma vez que se apresentaram, de forma recorrente, em grupos distintos das demais para os diferentes marcadores e métodos de análise.

Embora a soja tenha sido introduzida no Brasil a partir de um pool genético limitado, os programas de melhoramento no país têm conseguido explorar a variabilidade genética disponível ao longo de mais de 50 anos de seleção e desenvolvimento. A análise realizada neste trabalho demonstra a existência de variabilidade suficiente para distinção dos genótipos e sua classificação em grupos dissimilares, indicando diversidade significativa no germoplasma avaliado. Como esta amostra representa parte do material comercialmente cultivado, pode-se supor que a variabilidade genética disponível pode e deve ser explorada pelos programas de melhoramento, contribuindo para o desenvolvimento de novas cultivares com características agrônomicas desejáveis.

AGRADECIMENTOS

Às agências de financiamento brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arriel NHC, Mauro AOD, Mauro SMZD, Bakke AO. Técnicas multivariadas na determinação da diversidade genética em gergelim usando marcadores RAPD. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 41, n. 5, p. 801-809, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000500012>
- Bizari EH, Val BHP, Pereira EM, Di Mauro AO, Unêda-Trevisoli SH. Selection indices for agronomic traits in segregating populations of soybean. *Revista Ciência Agronômica*, v. 48, n. 1, p. 110-117, 2017. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20170012>
- Cabral RC, Maekawa SCE, Zuffo AM, Steiner F. Selection indices to identify drought-tolerant soybean cultivars. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 7, p. 1-25, 2020. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i7.3812>
- Cargnelutti Filho A, Ribeiro ND, Burin C. Consistência do padrão de agrupamento de cultivares de feijão conforme medidas de dissimilaridade e métodos de agrupamento. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 45, n. 3, p. 236-243, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2010000300002>
- Carvalho IR, Mambrin ER. Genética, melhoramento e tecnologia de sementes. In: MARTIN, T. N.; PIRES, J. L. F.; VEY, R. T. (org.). *Tecnologias aplicadas para o manejo rentável e eficiente da cultura da soja*. Santa Maria: Editora GR, p. 105-126, 2022.
- Castro LS, Miranda MH, Lima JE. Indicadores sociais de desenvolvimento e a produção de soja: uma análise multivariada nos 150 maiores municípios produtores brasileiros. *Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional*, v. 11, n. 1, p. 69-87, 2015.
- Cerutti PH, Santos M, Muniz AT, Rodrigues AR, Carbonari LTS, Schwarzer PA. Desempenho de cultivares de soja em diferentes ambientes de cultivo. *Nativa*, v. 8, n. 3, p. 390-396, 2020. <https://doi.org/10.31413/nativa.v8i3.9521>
- Cruz CD, Ferreira FM, Pessoni LA. *Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética*. Viçosa: UFV, 2020.
- Cruz CD. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. *Acta Scientiarum*, v.38, n.4, p.547-552, 2016.
- Cruz CD, Regazzi AJ, Carneiro PCS. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento de genético. Viçosa-MG: UFV, v. 1, 514 p., 2012.
- Cox TS, Kiang YT, Gorman MB, Rodgers DM. Relationship between coefficient of parentage and genetic similarity indices in the soybean. *Crop Science*, v. 25, p. 529-532, 1985. <https://doi.org/10.2135/crop-sci1985.0011183X0025000300023x>
- Dellaporta SL, Wood J, Hicks JB. A plant DNA miniprep: version II. In: KORBAN, S. S. *Plant Molecular Biology Reporter*. 1 ed. Nova York, v. 1, p. 19-21, 1983.
- Ferreira Júnior JA, Unêda-Trevisoli SH, Espínola SMCG, Vianna VF, Di Mauro AO. Diversidade genética em linhagens avançadas de soja oriundas de cruzamentos biparentais, quádruplos e óctuplos. *Revista Ciência Agronômica*, v. 46, n. 2, p. 339-351, 2015. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20150013>
- Gwinner R, Setotaw FA, Pasqual M, Santos JB, Zuffo AM, Zambiazzi EV, Bruzi AT. Genetic diversity in Brazilian soybean germplasm. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v. 17, p. 373-381, 2017. <https://doi.org/10.1590/1984-70332017v17n4a56>
- Hamid MAA, Mandour AE, Ismail TAI, Al-Zohairy, A. M. Detection of genetic diversity in different soybean (*Glycine max* L.) cultivars using seed storage protein profiles and RAPD-PCR analysis. *Zagazig Journal of Agricultural Research*, v. 44, n. 3, 2017. <https://doi.org/10.21608/zjar.2017.52296>
- Kachare S, Tiwari S, Tripathi N, Thakur VV. Assessment of Genetic Diversity of Soybean (*Glycine max*) Genotypes Using Qualitative Traits and Microsatellite Markers. *Agricultural Research*, v. 9, n. 1, p. 23-34, 2020. <https://doi.org/10.1007/s40003-019-00412-y>
- Kloster GS, Barelli MAA, Silva CR, Neves LG, Sobrinho SP, Luz PB. Análise da divergência genética através de caracteres morfológicos em cultivares de feijoeiro. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v. 6, n. 3, p. 452-459, 2011. <https://doi.org/10.5039/agraria.v6i3a1140>
- Kumar SPJ, Susmita C, Sripathy KV, Agarwal DK, Pal G, Singh AN, Kumar S, Rai AK, Simal-Gandara J. Molecular characterization and genetic diversity studies of Indian soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) cultivars using SSR markers. *Molecular Biology Reports*, v. 49, p. 2129-2140, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-07030-4>
- Machado BQV, Nogueira APO, Hamawaki OT, Jorge GL, Rezende, GF, Glasenapp JS, Hamawaki RL, Hamawaki CDL. Agronomic performance and genetic diversity among lines and soybean cultivars. *Bioscience Journal*, v. 33, n. 6, p. 1419-1430, 2017. <https://doi.org/10.14393/BJ-v33n6a2017-37240>
- Mahalanobis PC. On the generalized distance in statistics. *Proceedings of the National Institute of Science of India*, v. 2, p. 49-55, 1936.
- Mantel N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Resources*, Baltimore, v. 7, n. 2, p. 209-220, 1967.
- MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Cultivares ou espécies registradas. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/registro-nacional-de-cultivares-2013-mc-1/cultivares-ou-especies-registradas>>. Acesso em 11 de setembro de 2023.
- Martin TN, Pires JLF, Vey RT. *Tecnologias aplicadas para o manejo rentável e eficiente da cultura da soja*. Santa Maria: Editora GR, 2022.

- Oda MC, Sediya T, Matsuo E, Cruz CD, Barros EG, Ferreira MFS. Phenotypic and molecular traits diversity in soybean launched in forty years of genetic breeding. *Agronomy Science and Biotechnology*, v. 1, n. 1, p. 1-9, 2015.
<https://doi.org/10.33158/ASB.2015v1i1p1>
- Rigon JPG, Capuani S, Brito Neto JF, Rosa GM, Wastowski AD, Rigon CAG. Dissimilaridade genética e análise de tri-
lha de cultivares de soja avaliada por meio de descritores
quantitativos. *Revista Ceres*, v. 59, n. 2, p. 233-240, 2012.
<https://doi.org/10.1590/S0034-737X2012000200012>
- Rodrigues B, Gomes APR, Serafim F, Nogueira APO, Hama-
waki, CDL, Hamawaki RL, Hamawaki OT. Dissimilarity
measures and hierarchical methods for the study of genetic
diversity on soybean. *Bioscience Journal*, p. 1544-1555,
2017.
<https://doi.org/10.14393/BJ-v33n6a2017-37909>
- Seixas CDS, Neumaier N, Balbinot Junior AA,
Krzyzanowski FC, Leite RMVBC. (Ed.). *Tecnologias de
produção da soja*. Londrina: Embrapa Soja, 347 p., 2020.
- Singh HP, Raigar OP, Chahota RK. Estimation of genetic di-
versity and its exploitation in plant breeding. *The Botanical
Review*, v. 88, p. 413-435, 2022.
<https://doi.org/10.1007/s12229-021-09274-y>
- Sousa LB, Hamawaki OT, Nogueira APO, Cardoso DBO,
Dias AC, Oliveira V, Batista RO, Bonetti AM, Hamawaki
RL. Microsatellites and phenotypic characteristics used to
select soybean lines in a Brazilian university breeding pro-
gram. *Genetics and Molecular Research*, v. 19, n. 1, 2020.
<https://doi.org/10.4238/gmr18105>
- Souza JS, Rodrigues LN, Ferreira LT, Uneda-Trevisoli SH,
Nascimento NFF. Future-ready crops, genetic variability in
lima bean seeds. *Acta Scientiarum-Agronomy*, v. 46, p. 12,
2024.
<https://doi.org/10.4025/actasciagron.v46i1.66767>
- Val BHP, Ferreira Júnior JA, Bizari EH, Di Mauro AO, Tre-
visoli SHU. Diversidade genética de genótipos de soja por
meio de caracteres agromorfológicos. *Ciência & Tecnolo-
gia: FATEC-JB*, v. 6, n. 1, p. 72-83, 2014.
- Vieira ESN, Pinho EVRV, Carvalho MGG, Silva PA. Carac-
terização de cultivares de soja por descritores morfológicos
e marcadores bioquímicos de proteínas e enzimas. *Revista
Brasileira de Sementes*, v. 31, n. 1, p. 86-94, 2009.
<https://doi.org/10.1590/S0101-31222009000100010>
- Villela OT, Unêda-Trevisoli SH, Silva FM, Bárbaro Júnior
LS, Di Mauro AO. Genetic divergence of roundup ready
(RR) soybean cultivars estimated by phenotypic charac-
teristics and molecular markers. *African Journal of Biotech-
nology*, v. 13, n. 26, p. 2613-2625, 2014.
<https://doi.org/10.5897/AJB2014.13661>
- Wysmierski PT, Vello NA. The genetic base of Brazilian
soybean cultivars: Evolution over time and breeding impli-
cations. *Genetics and Molecular Biology*, v. 36, n. 4, p.
547-555, 2017.
<https://doi.org/10.1590/S1415-47572013005000041>