

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

CAROLINE PATRICIA MENEGAZZI

**DETERMINAÇÃO DO MELHOR PERÍODO PARA REALIZAÇÃO DE
CRUZAMENTOS ARTIFICIAIS EM SOJA**

PATO BRANCO

2021

CAROLINE PATRICIA MENEGAZZI

**DETERMINAÇÃO DO MELHOR PERÍODO PARA REALIZAÇÃO DE
CRUZAMENTOS ARTIFICIAIS EM SOJA**

Determination of the best period for carrying out artificial crosses in soybeans

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentada como requisito para obtenção do título de Bacharel em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador: Giovani Benin.

PATO BRANCO

2021



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

CAROLINE PATRICIA MENEGAZZI

**DETERMINAÇÃO DO MELHOR PERÍODO PARA REALIZAÇÃO DE
CRUZAMENTOS ARTIFICIAIS EM SOJA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título
de Bacharel em Agronomia da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 23/novembro/2021

Giovani Benin
Professor Doutor
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Daniela Meira
Mestre
PPGAG-PB Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Maiara Cecilia Panho
Engenheira Agrônoma
PPGAG-PB Universidade Tecnológica Federal do Paraná

PATO BRANCO

2021

Dedico este trabalho à minha família, que eu seja a primeira de muitos de nós a chegar à universidade.

AGRADECIMENTOS

De início, agradeço a minha mãe, Ildéfátima, e a meu pai, Rui Pedro, por priorizar minha educação e colocar comida na mesa enquanto eu estudava. Agradeço-os que se hoje sou a primeira da família a chegar a uma universidade, é porque em minha base eu os tive lutando e apoiando a minha formação. Agradeço a meu pai pelo auxílio na implantação deste experimento e a minha mãe, por me confortar nos momentos de angústia. São vocês, os dois agricultores, dos quais mais me orgulho e me inspiro.

Agradeço aos meus irmãos, Denise Maria e André Luiz, por contribuírem nesta caminhada, de certa forma, esta conquista também tem um pouco de vocês e de seus sonhos. Agradeço aos meus sobrinhos, Victor Luiz e Vinicius Gabriel, por mesmo tão pequenos entenderem que a “a tia que mora longe” esteve tanto tempo longe de casa por um bom motivo e por me amarem tanto todas as vezes em que retornei.

Agradeço ao professor Dr. Giovani Benin, por confiar a mim esta pesquisa, por toda a orientação e conhecimento científico transmitido ao longo desses dois anos.

Agradeço aos meus colegas do Laboratório de Melhoramento Vegetal, por toda troca de conhecimento e auxílio na execução desta pesquisa, pelas conversas e convívio no laboratório, sem vocês muita coisa neste trabalho não seria possível.

Agradeço aos tantos amigos que conquistei ao longo dos meus anos de graduação, a segunda família que preencheu de amor os longos e incontáveis dias que passei dentro da universidade, por todas as memórias lindas que criamos juntos.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo identificar o melhor período e as condições ambientais ideais para a realização de hibridações artificiais em soja. O experimento foi conduzido no município de Pato Branco-PR, na safra 2020/2021. Para a condução do experimento foram utilizados nove cultivares de soja (BMX Raio IPRO, BMX Lança IPRO, BMX Zeus IPRO, NS 5445 IPRO, NS 5700 IPRO, NK 6201 IPRO, TMG 7058 IPRO, 95Y02 IPRO e M 5838 IPRO), cultivadas em dez épocas de semeadura escalonadas para afim de coincidir época de floração. Foram realizadas hibridações artificiais de 36 combinações híbridas, a campo em dois períodos do dia, entre 09:00h às 12:00h e entre 14:00h às 17:00h. As variáveis estudadas foram umidade relativa, temperatura do ar, número de polinizações realizadas, número de vagens sem sépalas, número de sementes produzidas e porcentagem de vagens sem sépalas. Foram realizados 418 cruzamentos artificiais, dos quais foram obtidas 92 vagens sem sépalas e 204 sementes. Os resultados indicam que as hibridações artificiais foram mais eficientes no período a partir das 14:00h às 17:00h, apresentando taxa de pegamento de 25,26%.

Palavras-chave: melhoramento genético; hibridação; *Glycine max*; umidade relativa do ar; temperatura.

ABSTRACT

This work aimed to identify the best period and the ideal environmental conditions to carry out artificial hybridizations in soybean. The experiment was conducted in the city of Pato Branco-PR, 2020/21 cropping season. To conduct the experiment, nine soybean cultivars were used (BMX Raio IPRO, BMX Lança IPRO, BMX Zeus IPRO, NS 5445 IPRO, NS 5700 IPRO, NK 6201 IPRO, TMG 7058 IPRO, 95Y02 IPRO and M 5838 IPRO), cultivated in ten staggered sowing times to coincide flowering season. The artificial hybridization of 36 hybrid combinations took place in the field in two periods of the day, between 09:00h to 12:00h and between 14:00h to 17:00h. The studied traits were relative humidity, air temperature, number of pollinations carried out, number of pods without sepals, number of seeds produced and percentage of pods without sepals. A total of 418 artificial crossings were carried out, from which 92 pods without sepals and 204 seeds were obtained. The results indicate that artificial hybridizations were more efficient in the period from 14:00h to 17:00h, with an pick up rate of 25,26%.

Keywords: breeding; hybridization; *Glycine max*; air relative humidity; temperature.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 – Combinações híbridas utilizadas no bloco de cruzamentos, Pato Branco-PR, 2021	31
Figura 1 – Estruturas florais selecionadas para as hibridações artificiais, Pato Branco-PR, 2021	32
Figura 2 – Estruturas florais removidas na emasculação e polinização, Pato Branco – PR, 2021	33
Figura 3 – Ausência de sépalas como marcador fenotípico, Pato Branco-PR, 2021.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características agrônômicas das cultivares utilizadas como genitores no bloco de cruzamento, Pato Branco-PR, 2021	30
Tabela 2 – Períodos dos cruzamentos das combinações híbridas e suas codificações, Pato Branco-PR, 2021	31
Tabela 3 – Médias de temperatura do ar (°C) e umidade relativa do ar (%), de acordo com os dois períodos de hibridações, Pato Branco, 2021	36
Tabela 4 – Número de polinizações realizadas (NPR), número de vagens sem sépalas (NVSS) e número de sementes produzidas (NSP) de 36 combinações híbridas em dois períodos de hibridações artificiais, Pato Branco, 2020/2021	37
Tabela 5 – Porcentagem de vagens sem sépalas (PVSS) obtidas de 36 combinações híbridas em dois períodos de hibridações artificiais, Pato Branco-PR, 2020/2021	39
Tabela 6 – Número de polinizações realizadas (NPR), número de vagens sem sépalas (NVSS), número de sementes produzidas e porcentagem de vagens sem sépalas (PVSS), das 36 combinações híbridas em dois períodos de hibridações artificiais, Pato Branco-PR, 2020/2021	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária
NPR	Número de Polinizações Realizadas
NSP	Número de Sementes Produzidas
NVSS	Número de Vagens Sem Sépalas
PPVS	Porcentagem de Vagens Sem Sépalas
USDA	United States Department of Agricultura

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
UR	Umidade Relativa
°C	Graus Celsius
T	Temperatura
H	Horário
h	Horas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	14
2.1	Geral	14
2.2	Específicos.....	14
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
3.1	A soja.....	15
3.1.1	Características reprodutivas da soja	16
3.2	Melhoramento genético da soja	17
3.3	Hibridação Artificial da Soja	18
3.3.1	Escolha dos parentais e uso de marcadores morfológicos	19
3.3.2	Preparação do bloco de cruzamento	20
3.3.3	Técnica de hibridação artificial em soja	21
3.3.3.1	Emasculação.....	23
<u>3.3.3.2</u>	<u>Polinização</u>	<u>23</u>
3.3.4	Fatores que afetam a hibridação artificial	24
3.3.4.1	Influência das condições de ambiente na hibridação artificial	26
3.3.4.1.1	<i>Umidade</i>	<i>27</i>
3.3.4.1.2	<i>Temperatura do ar.....</i>	<i>28</i>
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1	Bloco de cruzamento	30
4.2	Hibridação artificial	32
4.3	Caracteres avaliados.....	34
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	36
6	CONCLUSÃO	42
	REFERÊNCIAS.....	43

1 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma espécie leguminosa originária da China, domesticada no século XI a.C. Seu cultivo ocorre há mais de cinco mil anos, caracterizando-se como uma das culturas agrícolas mais antigas do mundo. No Brasil, a tropicalização da cultura por meio de programas de melhoramento genético permitiu seu cultivo de norte a sul do país, nas mais variadas condições edafoclimáticas (ALMEIDA *et al.*, 1999; SILVA *et al.*, 2017).

Considerada uma excelente fonte de óleo e proteína vegetal e fonte para biocombustíveis, a soja adquiriu o aspecto de cultura de maior relevância econômica a nível mundial (SILVA *et al.*, 2017). Hodiernamente, o Brasil é considerado o maior produtor e exportador da oleaginosa no mundo, atingindo uma produção de 136 milhões de toneladas na safra 2020/2021, exportando cerca de 83 milhões de toneladas (CONAB, 2021; USDA, 2021).

Para se atingir este patamar de produção, o melhoramento genético pauta-se no desenvolvimento de novas cultivares com alta capacidade produtiva, resistentes a estresses bióticos e abióticos que interferem na produção da cultura (ALMEIDA *et al.*, 1999; BEZERRA *et al.*, 2017). Para a obtenção de novas cultivares, o ponto de partida de um programa de melhoramento genético da soja são as hibridações.

Desenvolvimentos teóricos revelam que existem diversos aspectos que afetam diretamente o processo da hibridação artificial em soja, e que o estudo deles pode levar ao aumento de eficiência da atividade na fase inicial de um programa de melhoramento genético (FEHR, 1980; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999; ROCHA, 2017).

Um problema desafiador que surge neste domínio é a influência das condições ambientais, como a umidade relativa e a temperatura do ar, que afetam diretamente a taxa de pegamento de hibridações artificiais. Portanto, é de especial interesse para o melhoramento genético da soja, definir as condições ambientais ideais para a realização dos cruzamentos, para se alcançar elevadas taxas de sucesso no procedimento (GILIOLI; ALMEIDA; KIIHL, 1980; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Identificar o melhor período e as condições ambientais ideais para a realização de hibridações artificiais em soja.

2.2 Específicos

Realização de cruzamentos entre nove genitores de soja;

Avaliação das condições de umidade e temperatura que propiciam as maiores taxas de pegamento das hibridações;

Determinação do melhor horário para realizar os cruzamentos em soja nas condições de Pato Branco-PR, com base nas taxas de pegamento;

Verificação da efetividade dos cruzamentos realizados utilizando marcadores morfológicos dos genitores.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 A soja

A soja é uma espécie originária da China, introduzida no Brasil em 1882. Os primeiros cultivos experimentais ocorrem na Bahia, contudo, é no Rio Grande do Sul que seu cultivo encontra as condições favoráveis para se estabelecer, adquirindo caráter comercial e expressão econômica. A partir da década de 70, as lavouras de soja ultrapassam a região Sul e se expandem para o cerrado brasileiro (FEHR, 1980; ALMEIDA *et al.*, 1999; EMBRAPA, 2002a; EMBRAPA, 2002b; SILVA *et al.*, 2017).

A expansão agrícola da soja em latitudes maiores de 20º é resultado do melhoramento genético da cultura pautado na seleção de cultivares com um período juvenil longo para o florescimento (GILIOLI; ALMEIDA; KIIHL, 1980; BORÉM; MIRANDA, 2013). Atrelada à alta produtividade, a resistência a doenças e a ampla adaptação às condições ambientais (SILVA *et al.*, 2017).

Hodiernamente, no Brasil, o cultivo da soja ocorre em uma diversidade de ambientes, em altas e baixas latitudes. A expansão territorial da cultura continua ocorrendo em direção a uma nova fronteira de ocupação no cerrado, localizada na região MATOPIBA (Maranhão, Tocantins, Piauí e Bahia) (ALMEIDA *et al.*, 1999; DARONCH *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2017).

As sementes da soja são consideradas uma excelente fonte de óleo e proteína vegetal, apresentando um teor de aproximadamente 20% de óleo e 40% de proteína. O uso da semente ocorre tanto no consumo humano, quanto na produção de proteína animal e na indústria, associada à produção de tintas, lubrificantes e plásticos, além de ser fonte para produção de biocombustíveis (FEHR, 1980; GILIOLI; ALMEIDA; KIIHL, 1980; CHUNG; SINGH, 2008; SILVA *et al.*, 2017).

A soja é a cultura anual mais relevante do cenário agrícola brasileiro, configurando-se como a *commodity* de maior importância econômica do Brasil (SILVA *et al.*, 2017). O cultivo da oleaginosa no país atingiu uma produção de aproximadamente 136 milhões de toneladas, na safra 2020/21, em cerca de 38 milhões de hectares plantados, configurando o Brasil como o maior produtor mundial do grão (CONAB, 2021; USDA, 2021).

3.1.1 Características reprodutivas da soja

A soja é uma espécie leguminosa de ciclo anual, pertencente a família Fabaceae e ao gênero *Glycine* (FEHR, 1980; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999; CHUNG; SINGH, 2008; SILVA *et al.*, 2017). Trata-se de uma espécie autógama, de reprodução sexuada (BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999; BORÉM; MIRANDA, 2013; SILVA *et al.*, 2017).

A planta possui uma flor completa, com quatro partes: o cálice, a corola, o androceu e o gineceu, presentes em uma única flor (TALUKDAR; SHIVAKUMAR, 2012; MATSUO *et al.*, 2017). As pequenas flores são desenvolvidas em racemos axilares ou terminais, de duas a 35 flores por inflorescência, de coloração branca ou roxa (MATSUO *et al.*, 2017).

A estrutura da flor consiste em um cálice tubular com cinco sépalas, uma corola com cinco pétalas, dez estames e um pistilo (FEHR, 1980; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999; CHUNG; SINGH, 2008; TALUKDAR; SHIVAKUMAR, 2012). A corola possui uma pétala maior chamada de estandarte, duas pétalas laterais chamadas de asas e duas pétalas anteriores chamadas de quilhas, envolvendo e protegendo os órgãos reprodutivos (BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999; CHUNG; SINGH, 2008; TALUKDAR; SHIVAKUMAR, 2012; MATSUO *et al.*, 2017).

O cálice envolve a corola até o dia anterior a antese, então a corola emerge expondo as duas pétalas de asa e as duas pétalas de quilha. Uma flor aberta mede cerca de sete milímetros de comprimento e seis milímetros de largura (FEHR, 1980).

O gineceu é formado por um único pistilo, que possui um estilete glabro, curto e recurvado, terminando em um estigma. Apresenta também um único ovário que contém de um a cinco óvulos (FEHR, 1980; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999; CHUNG; SINGH, 2008; MATSUO *et al.*, 2017).

O órgão feminino fica receptivo ao pólen para polinização e fecundação, de um a dois dias antes da antese e permanece receptivo por dois dias após, se as pétalas da flor não forem removidas (FEHR, 1980, BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999). O androceu, órgão masculino, possui dez estames, que um dia antes da antese ficam prontos para a germinação do pólen (BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999).

Comumente, o pólen das anteras é despejado no estigma um pouco antes ou imediatamente após a antese, ou seja, antes da abertura da flor. Este processo garante um alto grau de polinização e menos de 1% de fecundação cruzada (FEHR,

1980; CHUNG; SINGH, 2008; TALUKDAR; SHIVAKUMAR, 2012). Fehr (1980) destaca que a autopolinização ocorre naturalmente na soja, sem que haja manipulação das flores.

Borém e Miranda (2013) enfatizam que a autopolinização é favorecida por diversos motivos, como a cleistogamia, em que a polinização ocorre antes da antese, que no caso da soja, ocorre quando os grãos de pólen atingem a maturidade e polinizam o estigma antes da abertura do botão floral. A atividade de insetos visitando flores diferentes pode gerar uma pequena taxa de alogamia, no entanto, variações nas condições ambientais também podem afetar.

A partir da fecundação, a soja apresenta um fruto do tipo legume, conhecido como vagem, resultando de um ovário completamente desenvolvido (MATSUO *et al.*, 2017). As vagens contêm de uma a três sementes, podendo apresentar até quatro (CHUNG; SINGH, 2008).

3.2 Melhoramento genético da soja

O melhoramento de plantas é uma arte realizada desde o princípio da agricultura. Os primeiros agricultores adaptavam plantas, selecionavam espécies e variedades mais desejáveis, acarretando nas primeiras mudanças alélicas dirigidas. Ao observar as plantas, foi possível detectar indivíduos atípicos, que eram colhidos para se obterem sementes para uso na propagação da espécie, deste modo, realizando o melhoramento (BORÉM; MIRANDA, 2013).

Por meio do melhoramento de plantas modificamos o ciclo, o hábito de crescimento, a eficiência de fotossíntese, a rusticidade de raízes e a reação a doenças, sendo estas, características que agregam maior estabilidade na produção de uma espécie (ARANTES *et al.*, 1999). Assim, desenvolveram-se cultivares resistentes ou tolerantes a pragas, doenças e estresse climático, adaptadas a diferentes regiões (BORÉM; MIRANDA, 2013; PEIXOTO; VILELA, 2018).

Diante as preocupações ambientais e climáticas, bem como alimentares, o melhoramento tem como responsabilidade elevar a produção mundial de alimentos, aliada a uma redução da quantidade de insumos utilizados na agricultura. O melhoramento de plantas torna possível aumentar a produção de alimentos, com qualidade nutricional, por meio da adaptação da planta ao ambiente, uma vez que,

umentando o potencial produtivo de uma espécie cultivada, diminuimos a necessidade de incorporação de novas áreas para cultivo (BORÉM; MIRANDA, 2013; PEIXOTO; VILELA, 2018).

O melhoramento genético da soja pauta-se no desenvolvimento de novas cultivares superiores as que já estão disponíveis no mercado, buscando solucionar as limitações geradas por fatores bióticos e abióticos que interferem na produção da cultura (ALMEIDA *et al.*, 1999; BEZERRA *et al.*, 2017).

Os programas de melhoramento genético de soja, comumente, são constituídos de quatro partes, sendo elas a escolha dos parentais, os cruzamentos e a obtenção de genótipos segregantes, o avanço das gerações por meio de autofecundações naturais, o teste de desempenho agrônômico e seleção de linhagens experimentais (MUNIZ, 2007). Destarte, para se obter cultivares adaptadas através do melhoramento genético, o ponto de partida são as hibridações artificiais (ROCHA, 2017)

3.3 Hibridação Artificial da Soja

No momento que se descobriu a reprodução sexual das plantas, a hibridação passa a ser incorporada às técnicas de melhoramento (BORÉM e MIRANDA, 2013). A hibridação consiste em um método empregado no cruzamento entre duas plantas que apresentem as características desejáveis em uma nova variedade (BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999; DAUERNHEIMER *et al.*, 2015; DALMAGRO *et al.*, 2019).

Na hibridação ocorre a fusão de gametas geneticamente diferentes, resultando em indivíduos híbridos heterozigóticos para um ou mais caracteres (BORÉM; MIRANDA, 2013; DALMAGRO *et al.*, 2019). A hibridação é utilizada para gerar combinações entre genes de materiais genéticos diferentes, de modo que, em espécies autógamas os progenitores são cruzados artificialmente, comumente envolvendo cruzamentos entre dois genitores (SILVEIRA, 1998).

Um programa de melhoramento genético é composto por diversas etapas, sendo a primeira delas o desenvolvimento de populações segregantes por meio de hibridações artificiais. Essas populações são conduzidas por várias gerações até se alcançar um determinado grau de homozigose genética (ALMEIDA *et al.*, 1999;

BORÉM; MIRANDA, 2013), considerando que na geração F₁ todos os indivíduos são heterozigotos (BORÉM; MIRANDA, 2013).

Na hibridação de espécies autógamas, os genitores são cruzados artificialmente. A hibridação artificial consiste em uma técnica de cruzamento a partir da emascação da flor a ser utilizada como genitor feminino, seguida da aplicação do pólen, coletado do genitor masculino, sobre o estigma desta flor (BORÉM; MIRANDA, 2013). Destarte, esse processo é composto por duas fases, a emascação e a polinização (GILIOLI; ALMEIDA; KIIHL, 1980).

Como a soja é uma planta que se autofecunda, os cruzamentos são realizados de forma manual. Para realizar a hibridação é essencial que o operador tenha conhecimento morfofisiológico da planta e da flor, assim como, habilidade manual para realizar os cruzamentos artificialmente, evitando perda de materiais bons e promissores (BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999; DAUERNHEIMER *et al.*, 2015).

No melhoramento da soja a hibridação pode ser realizada na forma de cruzamentos simples, duplos ou múltiplos (ALMEIDA *et al.*, 1999; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999). No entanto, o método mais utilizado é o cruzamento simples, que consiste no cruzamento entre dois genitores, P₁ x P₂ (BORÉM; CAVASSIM, 1999; BORÉM; MIRANDA, 2013).

Para definir a quantidade de flores a serem cruzadas, é preciso considerar a eficiência do operador, o número total de sementes que o programa precisa para cada combinação de cruzas e que parte das sementes geradas podem ser originadas por autofecundação (BORÉM; MIRANDA, 2013).

3.3.1 Escolha dos parentais e uso de marcadores morfológicos

Um dos procedimentos iniciais da hibridação é a escolha das cultivares que serão utilizadas como genitores (DAUERNHEIMER *et al.*, 2015). Usualmente, os parentais escolhidos são cultivares que possuem características de interesse agrônomo e comercial e que estejam de acordo com os objetivos do programa de melhoramento (ALMEIDA *et al.*, 1999; BORÉM; MIRANDA, 2013, BHERING *et al.*, 2017). Segundo Silveira (1998), o uso de variedades comerciais como progenitores aumenta a probabilidade de se obter linhagens superiores.

Uma técnica empregada na seleção dos pais é o uso de marcadores genéticos para identificar casos de autopolinização. Esses marcadores podem ser caracteres qualitativos controlados por um ou mais genes. O parental feminino selecionado deve apresentar alelo recessivo, enquanto no parental masculino, o alelo deve ser dominante, de modo que, as sementes ou plantas resultantes de autopolinização apresentem caracteres recessivos da mãe, enquanto os híbridos carreguem o caráter dominante do pai (FEHR, 1980).

Alguns caracteres qualitativos utilizados como marcadores genéticos são a cor da flor, cor do hipocótilo e cor da pubescência. Flores roxas são dominantes e flores brancas são recessivas, enquanto, a pubescência marrom é dominante sob a cinza. Em estágio de plântula utiliza-se como marcador a coloração do hipocótilo, uma vez que, hipocótilos de cor roxa apresentarão flores roxas, enquanto hipocótilos verdes originarão plantas com flores brancas (FEHR, 1980).

Desta forma, como a coloração das flores em soja pode ser branca ou roxa, quando cruzados genitores de flores distintas, durante a segregação deverão ser originadas linhagens de flores brancas e linhagens de flores roxas (SILVEIRA, 1998).

Portanto, o genitor feminino selecionado, quando possível, deve possuir um caráter condicionado por um gene recessivo que será utilizado como marcador, como flor branca, pubescência cinza e vagens, hilos e tegumentos de cloração clara. Assim, as plantas híbridas F_1 podem ser diferenciadas das autofecundações, pois apresentarão fenótipos condicionados pelo gene dominante fornecido pelo genitor masculino doador do pólen (GILIOLI; ALMEIDA; KIIHL, 1980; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999).

3.3.2 Preparação do bloco de cruzamento

Os blocos de cruzamento são os locais em que os genitores são plantados e quando as plantas iniciam a floração, são utilizados para a realização dos cruzamentos (BORÉM; CAVASSIM, 1999).

Um fator importante para realizar os cruzamentos é a sincronização de florescimento entre os genitores que compõem o bloco de cruzamento. Considerando que as combinações híbridas envolvem parentais tardios e precoces,

de modo que, estejam disponíveis botões florais e flores com pólen no mesmo momento (FEHR, 1980; BORÉM; CAVASSIM, 1999; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999).

De acordo com Borém e Cavassim (1999), o método mais empregado para garantir a sincronização de florescimento é o plantio escalonado. O plantio em épocas distintas auxilia na duração do florescimento e possibilita refazer os cruzamentos que falharam. Borém, Almeida e Kiihl (1999) enfatizam que quanto mais espaçado o período de plantio, maior a disponibilidade de flores, conseqüentemente, facilita a realização de um maior número de cruzamentos.

Indica-se a instalação dos blocos de cruzamento com intervalo de semeadura de uma semana. Cada genótipo semeado em parcelas uma a quatro fileiras de três a cinco metros de comprimento, com espaçamento de 80 cm entre fileiras, facilitando o deslocamento do operador e a realização dos cruzamentos (BORÉM; ALMEIDA; CAVASSIM, 1999).

3.3.3 Técnica de hibridação artificial em soja

Para realizar as hibridações são necessários equipamentos como uma pinça de pontas finas para manipular a flor pequena e etiquetas de identificação, conectadas a um fio, utilizadas para identificar as flores polinizadas (FEHR, 1980; GILIOLI; ALMEIDA; KIIHL, 1980; DAUENHEIMER *et al.*, 2015; BOREM; ALMEIDA; KIIHL, 1999).

Uma etapa essencial na hibridação artificial é a identificação do estágio ideal das flores femininas. Flores muito imaturas são difíceis de manipular e a porcentagem de polinizações bem sucedidas é reduzida, enquanto flores muito desenvolvidas podem ter sido autofecundadas ou polinizadas por machos não selecionados. Destarte, o estágio ideal para a flor feminina é determinado por sua aparência externa (FEHR, 1980).

As flores que serão emasculadas deverão apresentar estigma receptivo a polinização, normalmente, no estágio de botão floral, cerca de um a dois dias antes da abertura completa da flor (GILIOLI; ALMEIDA; KIIHL, 1980; BOREM; ALMEIDA; KIIHL, 1999).

Os botões florais selecionados para emasculação devem ser os aptos a abrir na manhã do dia seguinte ao do cruzamento, sendo identificados pela cor e tamanho. Os botões prontos para abrirem apresentam tamanho maior e são mais claros que os imaturos. As pétalas ainda não estão expostas fora do botão, mas sua coloração é visível entre as sépalas (GILIOLI; ALMEIDA; KIIHL, 1980; SILVEIRA, 1998; BOREM; ALMEIDA; KIIHL, 1999; TALUKDAR; SHIVAKUMAR, 2012; BAGATELI, 2013).

Em cada racemo, comumente são encontrados de um a três botões florais no estágio ideal para que sejam aproveitados como flores femininas. Após o botão floral ser selecionado, antes da emasculação, é preciso eliminar as flores abertas e os botões florais imaturos presentes no racemo, deixando apenas os botões aptos ao cruzamento (FEHR, 1980; SILVEIRA, 1998; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999; AGRAWAL *et al.*, 2001; TALUKDAR; SHIVAKUMAR, 2012).

A remoção das flores subdesenvolvidas ou superdesenvolvidas da inflorescência reduzem a competição por nutrientes e eliminam a autopolinização de flores já emasculadas, deste modo, evitando a colheita acidental de sementes autofecundadas. Na remoção de botões imaturos deve-se atentar aos botões escondidos sob as estípulas na axila das folhas, que posteriormente podem se desenvolver em flores (FEHR, 1980).

Para a obtenção de um alto conjunto de sementes a fase de escolha das anteras no estágio adequado é essencial. Desta forma, as flores aptas para fornecer pólen para a polinização são as que estão no estágio de antese, condição na qual as flores encontram-se completamente abertas e com o estandarte expandido, fase em que as anteras liberam os grãos de pólen (BOREM; ALMEIDA; KIIHL, 1999; TALUKDAR; SHIVAKUMAR, 2012).

A planta fornecedora de pólen deve apresentar uma flor aberta no dia e que possua pólen fértil, nas quais o pólen maduro solta das anteras como poeira amarela (MIYASAKA; SILVA, 1958; TALUKDAR; SHIVAKUMAR, 2012). Com a ponta do dedo é possível verificar a liberação do pólen pelas anteras, uma vez que a derriça do pólen varia com o grau de abertura da flor e variedade utilizada, assim como, pelas condições de ambiente (MIYASAKA; SILVA, 1958; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999).

3.3.3.1 Emasculação

Na planta genitor feminino, o botão floral selecionado deve ser segurado firme com o polegar e o indicador, sem exercer muita pressão. Com o auxílio da pinça remove-se o cálice, a corola, as cinco pétalas e as anteras, sem causar danos ao estigma. Após a emasculação, o estigma da flor receptora fica exposto e pronto para ser polinizado (MIYASAKA; SILVA, 1958; FEHR, 1980; GILIOLI; ALMEIDA; KIIHL, 1980; VOLMANN *et al.*, 1992; SILVEIRA, 1998; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999; BAGATELI, 2013; DAUERNHEIMER *et al.*, 2015).

Como a flor da soja é pequena e frágil, ela cai facilmente por ferimentos leves no pistilo, portanto, durante os cruzamentos deve-se tomar cuidado para não feri-lo (TALUKDAR; SHIVAKUMAR, 2012).

3.3.3.2 Polinização

Após a emasculação inicia-se o processo de polinização. As flores do genitor masculino devem conter anteras maduras que serão coletadas em plena floração, utilizadas para polinizar o estigma feminino após a remoção da corola (VOLLMANN *et al.*, 1992).

Na polinização manual, com o auxílio da pinça, removem-se os estames e pistilos da flor masculina, em seguida esfregam-se suavemente ou depositam-se as anteras sobre o estigma da flor feminina emasculada, depositando o pólen viável sobre ela (FEHR, 1980; GILIOLI; ALMEIDA; KIIHL, 1980; SILVEIRA, 1998; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999; TALUKDAR; SHIVAKUMAR, 2012; BAGATELI, 2013, DAUERNHEIMER *et al.*, 2015). Alguns operadores costumam deixar os estames da flor masculina enganchados na flor feminina, contudo, não existe comprovação de que isto melhore a porcentagem de polinização (FEHR, 1980). Após a polinização da flor do genitor feminino, o pólen germina em 24 horas (TALUKDAR; SHIVAKUMAR, 2012).

Em alguns casos, pode ser necessário o uso de várias flores masculinas para se obter uma adequada liberação de pólen quando as condições não estiverem favoráveis ou a mesma flor pode ser usada para polinizar várias flores femininas quando apresenta grande liberação de pólen (FEHR, 1980).

Posteriormente, realiza-se a identificação dos racemos florais polinizados com etiquetas que indicam o número correspondente ao cruzamento, fixando-as no entrenó ou no racemo abaixo da flor polinizada (MIYASAKA; SILVA, 1958; FEHR, 1980; SILVEIRA, 1998; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999). As flores trabalhadas não precisam ser protegidas (FEHR, 1980) e as plantas devem receber água e fertilizantes para evitar o estresse (TALUKDAR; SHIVAKUMAR, 2012).

Entre quatro a sete dias após a polinização é possível identificar se o cruzamento teve sucesso, considerando que o aborto das vagens ou sementes ocorre algumas semanas após a polinização. Durante a verificação das polinizações bem sucedidas, caso sejam identificados flores não cruzadas ou novos botões florais desenvolvidos no nó, estes devem ser removidos. Após a polinização, o botão floral permanece verde e começa a crescer, caso contrário o botão seca e cai da planta (FEHR, 1980; TALUKDAR; SHIVAKUMAR, 2012).

De duas a três semanas após as polinizações é preciso examinar os cruzamentos, para remover as vagens que se desenvolveram posteriormente e que não foram resultado do cruzamento. As vagens resultantes da hibridação artificial são identificadas pela ausência das sépalas no cálice (FEHR, 1980; SILVEIRA, 1998; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999).

Como as sépalas passam a cair conforme as vagens amadurecem, o adequado é realizar a colheita das vagens o mais breve possível antes dos frutos atingirem a maturação, bem como, a colheita precoce evita perda de sementes por abertura de vagens (FEHR, 1980).

Após a colheita das vagens em que houve sucesso de hibridação, Silveira (1998) ressalva que as vagens devem ser trilhadas manualmente, uma vez que estas originarão as sementes F_1 s. Posteriormente, estas sementes serão plantadas, constituindo a população segregante, que quando colhidas, originarão as sementes F_2 .

3.3.4 Fatores que afetam a hibridação artificial

Existem inúmeros fatores que afetam o pegamento dos cruzamentos e a produção de sementes híbridas, interferindo no sucesso da hibridação. A porcentagem de cruzamentos bem sucedidos depende do ambiente, da habilidade

do operador, da saúde da planta, da escolha dos genitores e da presença de pragas e doenças (FEHR, 1980; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999).

Na soja a técnica de hibridação é considerada um procedimento delicado devido ao tamanho pequeno das flores. A reduzida dimensão das estruturas florais exige que o operador tenha experiência e habilidade para alcançar porcentagens satisfatórias de sucesso na hibridação. O processo requer firmeza, habilidade e cuidado nos procedimentos de emasculação, polinização e etiquetagem das flores (SILVEIRA, 1998; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999; AGRAWAL *et al.*, 2001).

A taxa de sucesso dos cruzamentos é influenciada pelo conhecimento morfofisiológico do operador, para que ele possa identificar os estádios adequados de desenvolvimento dos botões florais para emasculação e das flores fornecedoras de pólen. O operador também deve evitar danos à estrutura reprodutora feminina, como o ovário, estilete e estigma, durante o processo de emasculação (FEHR, 1980; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999; TALUKDAR; SHIVAKUMAR, 2012).

Deste modo, as principais causas de insucesso da hibridação da soja estão no uso inadequado de botões florais imaturos, danos ao aparelho reprodutor feminino e na polinização inadequada (FEHR, 1980; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999). Há uma possibilidade de o sucesso ser menor quando utilizadas como flores femininas as primeiras flores da planta, pois normalmente as primeiras e as últimas flores abortam com maior frequência (CHUNG; SINGH, 2008).

Fehr (1980) ressalta que para aumentar a eficiência da hibridação artificial, outro cuidado a ser tomado é o de minimizar o transporte do pólen ou evitar mexer nas etiquetas de identificação após a polinização.

Considerando as condições ideais, segundo Borém, Almeida e Kiihl (1999), um operador com experiência pode alcançar taxas de pegamento entre 65 a 90% de sucesso nos cruzamentos. Segundo Fehr (1980), um operador com experiência pode apresentar sucesso de 50% nas hibridações, equivalente a uma semente híbrida por cruzamento, considerando duas sementes por vagem, enquanto operadores inexperientes podem apresentar nenhum sucesso.

Outro aspecto que influencia no sucesso da hibridação e na formação de sementes é a disponibilidade de plantas saudáveis e com um número adequado de flores. Antes da floração é essencial a realização de um manejo adequado, tanto de fertilidade e umidade do solo, quanto do controle de pragas, incluindo a eliminação

da competição com plantas daninhas e o controle de doenças e insetos (FEHR, 1980; BORÉM; CAVASSIM, 1999).

Uma diversidade de espécies de insetos atacam as plantas nos blocos de cruzamentos, principalmente a campo, sobretudo insetos sugadores de vagens como os percevejos, considerados como pragas causadoras de aborto em vagens e sementes no início do desenvolvimento produtivo. Indicam-se pulverizações preventivas com inseticidas e fungicidas para minimizar e controlar pragas e doenças (BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999).

A eficiência da hibridação também pode ser influenciada pelas cultivares selecionadas como genitoras, havendo diferença em plantas que apresentam crescimento determinado e indeterminado. Cultivares indeterminadas por possuírem racemos curtos na axila das folhas dificulta o operador a alcançar e manipular as flores, enquanto em plantas determinadas os racemos longos se localizam no topo da planta e acima da axila da folha facilitando o manuseio da flor (FEHR, 1980).

3.3.4.1 Influência das condições de ambiente na hibridação artificial

Mesmo que as hibridações sejam realizadas no início do ciclo das plantas, é necessário determinar uma condição que reduza o estresse das plantas, reduza as taxas de abortamento e viabilize o pegamento dos cruzamentos (ROCHA, 2017).

O melhor período do dia para a realização da coleta do pólen e dos cruzamentos, buscando uma maior probabilidade de sucesso de pega, é determinado pelas condições do ambiente. Contudo, existem locais nos quais é possível realizar hibridações de sucesso em qualquer período do dia (GILIOLI; ALMEIDA; KIIHL, 1980; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999).

O ambiente pode ser a campo ou em casa de vegetação, em ambas as situações o grau de sucesso dos cruzamentos será influenciado pelas condições edafoclimática durante todo o ciclo, mas principalmente nas fases de florescimento e enchimento de grãos. A campo as hibridações dependem das condições climáticas como chuva e temperatura, enquanto em casa de vegetação, essas mesmas condições podem ser controladas (BOREM; ALMEIDA; KIIHL, 1999).

A baixa umidade e a alta temperatura em clima tropical e subtropical acarretam na secagem do pequeno estigma, sendo este o principal causador do baixo sucesso

de cruzamentos (AGRAWAL *et al.*, 2001). As flores são estruturas sensíveis, que quando emasculadas nessas condições, secam e deixam de produzir sementes, ainda que a polinização tenha sido realizada com sucesso (BONETTI, 1983 *apud* MUNIZ, 2007).

A hibridação é um método importante utilizado no melhoramento genético da soja, no entanto, existem poucas informações a respeito do grau recomendado de umidade relativa do ar e temperatura para a hibridação artificial. Na literatura, as informações que abordam sobre a influência da umidade relativa e temperatura na obtenção de um maior número de vagens e sementes híbridas ainda são limitadas (MATSUO, 2012; MATSUO *et al.*, 2015).

3.3.4.1.1 Umidade

A umidade relativa do ar (UR%) configura-se como um dos fatores mais importantes na hibridação artificial da soja, assim como a temperatura, influenciando na duração da receptividade do estigma e na viabilidade do pólen (FEHR, 1980; BORÉM; CAVASSIM, 1999).

A alta umidade relativa pode acarretar em um pólen pegajoso e acumulado, tornando difícil seu manuseio, principalmente na polinização da flor emasculada, podendo também ocasionar a infestação de doenças. Nestas condições, a liberação do pólen pode ocorrer somente próximo ao meio-dia, quando a umidade diminui. Contudo, uma UR alta está associada ao sucesso da hibridação artificial, desde que dentro do limite estabelecido como ideal para a cultura (FEHR, 1980; BORÉM; CAVASSIM, 1999; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999).

Destarte, uma baixa umidade relativa resulta na falha do grão de pólen na germinação sobre o estigma. Neste caso, indica-se cobrir a flor com um saco, com o objetivo de aumentar a umidade relativa e conseqüentemente, melhorar a porcentagem de pegamento (FEHR, 1980; BORÉM; CAVASSIM, 1999).

Em trabalho realizado por Dalmagro *et al.* (2019) definiu-se que a condição ideal para gerar um maior número de vagens fecundadas apresentou umidade ideal de 65 a 70%, mas também identificou-se como umidades possíveis de se trabalhar com sucesso os intervalos entre 60% a 65% e 70% a 75%.

A umidade adequada do solo também é fator determinante na hibridação artificial, para a obtenção de plantas vigorosas, resultando em uma menor porcentagem de aborto de flores e sementes (FEHR, 1980; BORÉM; CAVASSIM, 1999). O estresse por umidade durante a floração e nos estágios iniciais de desenvolvimento das sementes reduz a produção de sementes, portanto, a eliminação do estresse hídrico está diretamente ligada ao aumento da porcentagem de pegamento dos cruzamentos (FEHR, 1980).

A escassez hídrica é considerada a causa principal do aborto de flores e vagens (BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 1999). Deste modo, é imprescindível irrigar as plantas durante o período crítico da hibridação. Mas em casos em que a irrigação não esteja disponível, indica-se a redução de plantas através do desbaste ou aumento da área de terra disponível para cada planta aliada a remoção do excesso de flores (FEHR, 1980).

3.3.4.1.2 Temperatura do ar

Um dos fatores que afetam diretamente a hibridação artificial é a temperatura do ar (T °C), que influencia na época de floração e na adequação das flores para os cruzamentos. Na soja temperaturas muito elevadas ou muito baixas desfavorecem a polinização e a fertilização das flores (FEHR, 1980).

Altas temperaturas estão associadas à diminuição da durabilidade e da viabilidade do pólen, bem como, ao encurtamento da duração da receptividade do estigma (FEHR, 1980; BORÉM; CAVASSIM, 1999). Na hibridação artificial, as temperaturas altas também ocasionam aumento de abortos de flores devido ao estresse por umidade, contudo, existe a possibilidade de cruzamentos bem sucedidos em temperaturas em torno de 35 °C quando a umidade do solo for adequada (FEHR, 1980). Segundo Muller (1981 *apud* MATSUO, 2012), temperaturas de 40 °C podem ocasionar abortamento em 57% a 71% das vagens.

Em baixas temperaturas verifica-se um aumento da tendência de autopolinização antes das flores alcançarem tamanho suficiente para serem manipuladas, uma vez que, o frio reduz a quantidade de pólen emitido (FEHR, 1980; BORÉM; CAVASSIM, 1999).

Deste modo, temperaturas abaixo de 21 °C ou acima de 32 °C reduzem a iniciação floral e a formação de sementes, de modo que, a temperatura indicada para uma hibridação artificial bem sucedida esteja entre 26 °C e 32 °C (FEHR, 1980). No entanto, o autor enfatiza que a temperatura ótima para a hibridação costuma ser mais baixa para culturas adaptadas as regiões temperadas do que para as culturas adaptadas aos trópicos.

Borém, Almeida e Kiihl (1999) relatam que, em condições de casa de vegetação, a temperatura ideal para a realização de polinizações é a de 25 °C a 30 °C, considerando que temperaturas abaixo de 25 °C reduzem a derriça do pólen e acima de 30 °C impulsionem o aborto de flores. Este resultado é contrário ao identificado por Dalmagro *et al.* (2019), que encontrou o intervalo de 30 °C a 40 °C como temperaturas toleráveis para que haja fecundação, considerando que a temperatura ideal seja de 35 °C a 40 °C, no entanto, desaconselhando a realização de cruzamentos em temperaturas acima de 40 °C e abaixo de 30 °C.

Em condições de campo não é possível controlar a temperatura, deste modo, uma alternativa é a realização dos cruzamentos em ambientes controlados. Nestes locais se consegue diminuir o estresse gerado pela temperatura, contribuindo em uma melhor taxa de pegamento dos cruzamentos e diminuindo a perda de materiais pelo não pegamento, conseqüentemente, aumentando a qualidade dos cruzamentos e gerando um número expressivo de cruzamentos para o desenvolvimento de uma maior quantidade de linhagens (DAUERNHEIMER *et al.*, 2015).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos em condições de campo, na Universidade Tecnológica Federal, *Campus* Pato Branco, entre os anos 2020/21. A altitude média é de 760 metros, localizada nas coordenadas geográficas latitude 26°13'46" Sul e longitude 52°40'14" Oeste (MUNICÍPIO DE PATO BRANCO, 2021). O clima da região é Cfa – Clima Subtropical, conforme classificação de Köppen (NITSCHKE *et al.*, 2019).

4.1 Bloco de cruzamento

Para compor o bloco de cruzamento foram selecionadas nove cultivares de soja, sendo elas BMX Raio IPRO, BMX Lança IPRO, BMX Zeus IPRO, 95YO2 IPRO, TMG 7058 IPRO, NS 5700 IPRO, M 5838 IPRO, NK 6201 IPRO e NS 5445 IPRO. As características agrônômicas das cultivares são relatadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Características agrônômicas das cultivares utilizadas como genitores no bloco de cruzamento, Pato Branco-PR, 2021

Cultivares	Tipo de Crescimento	Grupo de Maturação (GM)	Cor da flor	Cor da pubescência	Relação à Peroxidase
BMX Raio IPRO	Indeterminado	5.0	Roxa	Cinza clara	Negativa
BMX Zeus IPRO	Indeterminado	5.5	Branca	Marrom clara	Negativa
BMX Lança IPRO	Indeterminado	5.8	Branca	Cinza clara	Positiva
95Y02 IPRO	Indeterminado	4.9	Roxa	Cinza	-
TMG 7058 IPRO	Indeterminado	5.8	Branca	Cinza	-
NS 5700 IPRO	Indeterminado	5.5	Roxa	Cinza	-
M 5838 IPRO	Indeterminado	5.8	Branca	Cinza	Negativa
NK 6201 IPRO	Indeterminado	6.2	Branca	Cinza	Negativa
NS 5445 IPRO	Indeterminado	5.4	Branca	Cinza	Positiva

Fonte: MAPA (2019)

Para garantir coincidência de florescimento entre as cultivares, e consequentemente, prolongar a operação de hibridação, o plantio dos nove parentais foi realizada de forma escalonada. A semeadura foi realizada em canteiros, a partir do mês de setembro de 2020, com intervalo de sete dias,

totalizando dez épocas. Em cada época foram utilizadas de três a cinco sementes por cova, para garantir a germinação, com posterior raleio no estágio inicial da cultura (V1).

As plantas daninhas foram controladas por capinas manuais, enquanto o controle de doenças e pragas foi realizado conforme necessidade e recomendações para a cultura. A irrigação foi realizada manualmente com regador e/ou mangueira, uma vez ao dia.

Foram realizados cruzamentos de 36 combinações híbridas (Quadro 1) em dois períodos do dia (Tabela 2). Os dois intervalos de horários do dia foram determinados por apresentarem temperatura e umidade relativa do ar distintas.

Quadro 1 – Combinações híbridas utilizadas no bloco de cruzamento, Pato Branco-PR, 2020/2021

Hibridação	Genitor								
Genitor	BMX Lança IPRO	BMX Raio IPRO	BMX Zeus IPRO	M 5838 IPRO	NK 6201 IPRO	NS 5445 IPRO	NS 5700 IPRO	95Y02 IPRO	TMG 7058 IPRO
BMX Lança IPRO		x	x	x	x	x	x	x	x
BMX Raio IPRO			x	x	x	x	x	x	x
BMX Zeus IPRO				x	x	x	x	x	x
M 5838 IPRO					x	x	x	x	x
NK 6201 IPRO						x	x	x	x
NS 5445 IPRO							x	x	x
NS 5700 IPRO								x	x
95Y02 IPRO									x
TMG 7058 IPRO									

Fonte: Autoria própria (2019)

Tabela 2 – Períodos dos cruzamentos das combinações híbridas e suas codificações, Pato Branco-PR, 2020/2021

Codificações	Períodos de Polinização
H1	09:00h -12:00h
H2	14:00h -17:00h

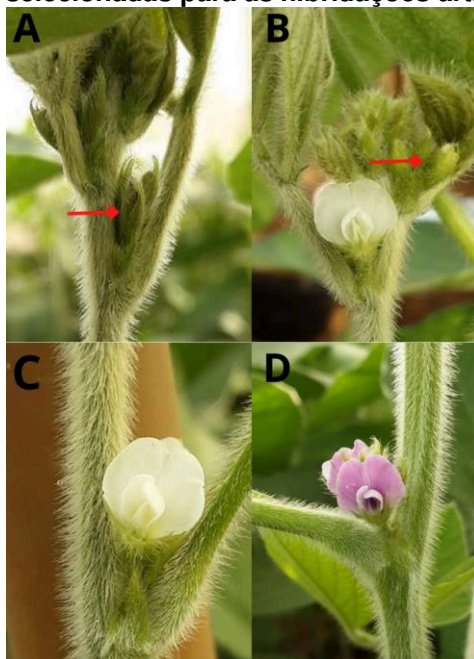
Fonte: Autoria própria (2021)

4.2 Hibridação artificial

A partir do início da floração (estádio reprodutivo R1), todos os dias verificava-se a disponibilidade de flores femininas e masculinas, exceto em dias chuvosos em que não havia liberação de pólen devido a alta umidade relativa do ar.

Nas plantas receptoras de pólen foram selecionadas botões florais antes da antese, que apresentavam um tamanho maior em relação aos demais botões do mesmo racemo floral. Nas plantas doadoras de pólen foram selecionadas flores completamente abertas e na antese, que apresentavam coloração “viva” e que liberavam pólen (Figura 1).

Figura 1 – Estruturas florais selecionadas para as hibridações artificiais, Pato Branco-PR, 2021



A e B = botões florais selecionadas para emascação; C e D = flores abertas selecionadas para polinização

Fonte: Hagn e Menegazzi (2020)

Para realizar os cruzamentos, a técnica adotada foi a hibridação artificial, que consiste na emascação das anteras e polinização. O procedimento foi realizado a campo e por um único operador. Antes da emascação foram removidas todas as flores abertas e botões florais imaturos presentes no racemo que seria trabalhado. A polinização foi realizada imediatamente após a emascação, utilizando de um a dois botões florais.

No genitor feminino, com o auxílio de uma pinça de ponta fina, removeu-se as sépalas e pétalas do botão floral, em seguida realizou-se a emascação por

meio da remoção das anteras. Na flor doadora de pólen, removeu-se os estames e o pistilo, em seguida, para realizar a polinização, depositou-se com movimentos leves os grãos de pólen viáveis sob o estigma da flor emasculada (Figura 2). Optou-se por deixar a antera do genitor masculino sob o estigma feminino, principalmente quando observou-se deiscência insuficiente das anteras em alta umidade.

Figura 2 – Estruturas florais removidas na emasculação e polinização, Pato Branco-PR, 2021



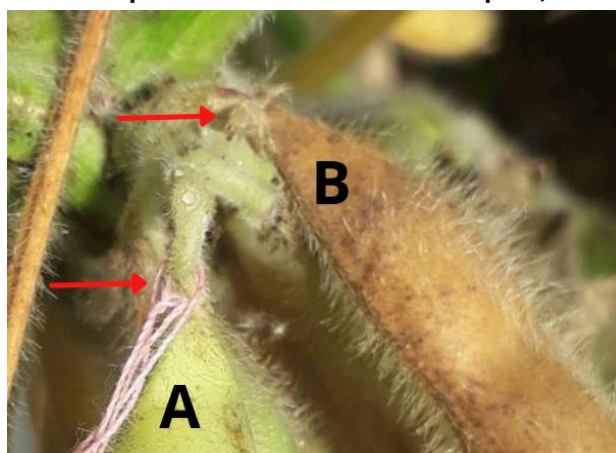
A e B = remoção das sépalas, pétalas e anteras na emasculação; C = remoção das sépalas, pétalas, estames e pistilo na polinização; D = deposição do pólen doador na flor emasculada
Fonte: Hagn e Menegazzi (2020)

Cada botão floral polinizado recebeu uma etiqueta de identificação com a combinação híbrida equivalente. Para diferenciar as hibridações realizadas em diferentes períodos, os cruzamentos realizados pela manhã receberam etiquetas com fio branco e cruzamentos realizados a tarde etiquetas com fio preto.

Quando possível, utilizou-se de marcadores morfológicos recessivos para o genitor feminino, com o objetivo de identificar plantas híbridas e o sucesso da hibridação. O padrão fenotípico empregado foi cor da flor, portanto, considerando que o genitor feminino seja portador do alelo recessivo, apresentará flores brancas. Neste caso, os genitores que possuíam flores roxas foram utilizados como doadores de pólen e cruzados com os genitores que possuíam flor branca.

A ausência das sépalas foi utilizada como marcador fenotípico de vagens que resultaram de hibridação artificial, conforme apresentada na Figura 3, na qual consta uma vagem sem sépala, proveniente de emasculação e polinização artificial e vagem com sépala proveniente de autopolinização.

Figura 3 – Ausência de sépalas como marcador fenotípico, Pato Branco-PR, 2021



A = vagem sem sépalas; B= vagem com sépalas
Fonte: A autoria própria (2020)

A colheita foi realizada quando as vagens resultantes da hibridação artificial atingiram a maturação, chamadas de sementes híbridas ou sementes F₁s, coletadas junto com a etiqueta de identificação correspondente. Todas as vagens foram coletadas e trilhadas manualmente, posteriormente, as sementes foram armazenadas em envelopes identificados com período de hibridação e combinação híbrida. As plantas genitoras também foram colhidas, trilhadas e armazenadas.

Para verificar a eficiência da polinização, realizou-se o plantio das sementes produzidas pelos cruzamentos, separadamente por período de polinização e combinação híbrida. Por meio do plantio das sementes F₁ coletadas das vagens sem sépalas, juntamente com os nove genitores, foi possível observar a ocorrência de autofecundação e determinar o número de plantas híbridas pela avaliação da cor da flor, quando o uso do marcador morfológico foi possível.

4.3 Caracteres avaliados

As variáveis analisadas foram o número de polinizações realizadas (NPR), o número de vagens sem sépalas (NVSS), o número de sementes produzidas (NSP) e a porcentagem de vagens sem sépalas (PVSS).

A porcentagem de vagens sem sépalas (PPVS) foi obtida em cada período do dia e combinação híbrida, conforme descrito por Matsuo *et al.* (2015) e Matsuo *et al.* (2012), por meio da equação 1.

$$PPVS \% = \frac{NVSS}{NPR} * 100 \quad (1)$$

Para cada combinação híbrida e período de polinização, realizou-se a colheita e contagem das vagens sem sépalas (NVSS). As vagens colhidas foram debulhadas manualmente, após determinou-se o número de sementes produzidas por período de polinização para cada combinação híbrida.

Outras variáveis avaliadas foram umidade relativa do ar (%) e temperatura do ar (°C). A coleta e registro dos dados foram realizados com o uso de um termohigrógrafo digital e ocorreram em todos os períodos e dias em que os cruzamentos foram realizados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

De acordo com os valores médios de umidade relativa e temperatura do ar registrados nos dois períodos de hibridação (Tabela 3), indicam tendência de aumento de temperatura e redução da umidade relativa do ar ao decorrer dos períodos avaliados. No entanto, não se identificou uma expressiva diferença entre os dois períodos para as duas variáveis analisadas, desta forma, não indicando influência significativa sobre a eficiência das hibridações realizadas.

Tabela 3 – Médias de temperatura do ar (°C) e umidade relativa do ar (%), de acordo com os dois períodos de hibridações, Pato Branco-PR, 2021

Período de Hibridação	Umidade relativa do ar (%)	Temperatura do ar (°C)
H1	42	35
H2	34	37,7

¹H1:09:00h-12:00h e H2:14:00h-17:00h

Fonte: autoria própria (2021)

Analisando as 36 combinações híbridas (Tabela 4), foi possível realizar um maior número de polinizações e obter um maior número de vagens sem sépalas em duas combinações híbridas, no período H1 (09:00h-12:00h). Nesse período, três combinações híbridas apresentaram maior número de sementes, enquanto no período H2 (14:00h-17:00h), seis combinações híbridas apresentaram maior número de sementes.

Observou-se reduzido número de vagens e conseqüentemente, reduzido número de sementes, para ambos os períodos, principalmente nas combinações híbridas envolvendo o genitor NK 6201 IPRO, nas combinações BMX Lança IPRO x NK 6201 IPRO, BMX Zeus IPRO x TMG 7058 IPRO, M5838 IPRO x NS 5445 IPRO, NK 6201 IPRO x NS 5445 IPRO, NK 6201 IPRO x NS 5700 IPRO e NK 6201 IPRO x 95Y02 IPRO. Não houve produção de vagens e sementes em 11 combinações realizadas no período H1 (09:00h-12:00h) e em 16 combinações realizadas no período H2 (14:00h-17:00h).

No número de vagens sem sépalas, podem estar incluídas vagens resultantes de hibridações, mas também vagens originadas por autofecundação. Mesmo que colhidas apenas vagens sem sépalas, no momento de realizar a polinização artificial, a autopolinização já poderia ter ocorrido, conforme descrito por Matsuo (2012) e Matsuo *et al.* (2015). Considerando os valores individuais de cada combinação

híbrida, nos dois períodos de hibridação, cada vagem sem sépalas produziu em média 2 sementes vagem⁻¹.

Tabela 4 – Número de polinizações realizadas (NPR), número de vagens sem sépalas (NVSS) e número de sementes produzidas (NSP) de 36 combinações híbridas em dois períodos de hibridações artificiais, Pato Branco-PR, 2020/2021¹

			(continua)				
Períodos	NPR	NVSS	NSP	Período	NPR	NVSS	NSP
BMX Lança x BMX Raio				BMX Zeus x NS 5700			
H1	8	1	2	H1	6	0	0
H2	4	0	0	H2	6	4	7
BMX Lança x BMX Zeus				BMX Zeus x P 95Y02			
H1	8	2	4	H1	5	1	3
H2	5	0	0	H2	6	4	8
BMX Lança x M 5838				BMX Zeus x TMG 7058			
H1	8	1	1	H1	7	0	0
H2	4	0	0	H2	4	0	0
BMX Lança x NK 6201				M 5838 x NK 6201			
H1	8	0	0	H1	7	1	1
H2	4	0	0	H2	4	1	3
BMX Lança x NS 5445				M 5838 x NS 5445			
H1	8	2	4	H1	7	0	0
H2	4	3	8	H2	4	0	0
BMX Lança x NS 5700				M 5838 x NS 5700			
H1	8	2	5	H1	7	2	4
H2	4	3	6	H2	4	1	3
BMX Lança x P 95Y02				M 5838 x P 95Y02			
H1	7	1	3	H1	6	2	6
H2	4	2	5	H2	4	1	2
BMX Lança x TMG 7058				M 5838 x TMG 7058			
H1	8	1	2	H1	6	1	3
H2	4	0	0	H2	4	4	10
BMX Raio x BMX Zeus				NK 6201 x NS 5445			
H1	7	4	9	H1	4	0	0
H2	4	4	8	H2	5	0	0
BMX Raio x M 5838				NK 6201 x NS 5700			
H1	8	4	10	H1	5	0	0
H2	4	0	0	H2	5	0	0
BMX Raio x NK 6201				NK 6201 x P 95Y02			
H1	6	1	1	H1	5	0	0
H2	6	0	0	H2	5	0	0
BMX Raio x NS 5445				NK 6201 x TMG 7058			
H1	6	2	4	H1	5	1	1
H2	6	0	0	H2	5	0	0
BMX Raio x NS 5700				NS 5445 x NS 5700			
H1	5	2	6	H1	5	2	5
H2	6	1	3	H2	5	0	0
BMX Raio x P 95Y02				NS 5445 x P 95Y02			
H1	5	2	4	H1	5	2	5
H2	6	1	3	H2	5	1	2
BMX Raio x TMG 7058				NS 5445 x TMG 7058			
H1	6	1	2	H1	5	1	3
H2	6	1	1	H2	5	3	7
BMX Zeus x M 5838				NS 5700 x P 95Y02			
H1	6	3	8	H1	5	0	0
H2	6	0	0	H2	5	2	4

¹H1:09:00h-12:00h e H2:14:00h-17:00h

Fonte: autoria própria (2021)

Tabela 4 – Número de polinizações realizadas (NPR), número de vagens sem sépalas (NVSS) e número de sementes produzidas (NSP) de 36 combinações híbridas em dois períodos de hibridações artificiais, Pato Branco-PR, 2020/2021¹

Períodos	NPR	NVSS	NSP	(conclusão)			
				Período	NPR	NVSS	NSP
BMX Zeus x NK 6201				NS 5700 x TMG 7058			
H1	6	0	0	H1	5	1	2
H2	6	3	6	H2	5	5	8
BMX Zeus x NS 5445				P 95Y02 x TMG 7058			
H1	6	0	0	H1	5	0	0
H2	6	3	9	H2	5	2	5

¹H1:09:00h-12:00h e H2:14:00h-17:00h

Fonte: autoria própria (2021)

Das 36 combinações híbridas, 15 apresentaram maiores porcentagens de vagens sem sépalas em cruzamentos realizados no período H1 (09:00h-12:00h), 14 no período H2 (14:00h-17:00h), enquanto sete combinações apresentaram o mesmo valor nos dois períodos. A maior porcentagem de pega foi observada na combinação híbrida BMX Raio IPRO x BMX Zeus IPRO, registrando 57,14% no período H1 e 100% no período H2 (Tabela 5). Em contrapartida, seis combinações híbridas apresentaram porcentagem igual a zero para ambos os períodos, por não terem desenvolvido vagens sem sépalas.

Em trabalho desenvolvido por Dalmagro *et al.* (2019), os cruzamentos com maior número de vagens e sementes foram aqueles realizados em temperaturas e umidades relativas altas, resultando em uma maior quantidade de flores cruzadas e com média de formação de vagens de 60%. Os autores identificaram como ideal para a formação de vagens, temperaturas entre 35 °C a 40 °C e umidade relativa do ar de 65% a 70%.

O fator habilidade do operador, neste trabalho, teve grande influência na porcentagem de vagens sem sépalas, somado ao horário de realização da hibridação artificial. Segundo Matsuo (2012) e Matsuo *et al.* (2015) um operador habilidoso consegue obter vagens e sementes mesmo em polinizações efetuadas em horários inadequados e em condições de reduzido número de plantas genitoras. Fehr (1980) enfatiza que um operador experiente obtém sucesso de até 50% nas hibridações. Deste modo, a baixa eficiência de pegamento, identificada nos dois períodos de hibridação, pode estar relacionada a falta de habilidade do operador.

Tabela 5 – Porcentagem de vagens sem sépalas (PVSS) obtidas de 36 combinações híbridas em dois períodos de hibridações artificiais, Pato Branco-PR, 2020/2021¹

(continua)

Períodos	PVSS	Períodos	PVSS
BMX Lança x BMX Raio		BMX Zeus x NS 5700	
H1	12,5	H1	0
H2	0	H2	66,67
BMX Lança x BMX Zeus		BMX Zeus x P 95Y02	
H1	25	H1	20
H2	0	H2	66,67
BMX Lança x M 5838		BMX Zeus x TMG 7058	
H1	12,5	H1	0
H2	0	H2	0
BMX Lança x NK 6201		M 5838 x NK 6201	
H1	0	H1	14,29
H2	0	H2	25
BMX Lança x NS 5445		M 5838 x NS 5445	
H1	25	H1	0
H2	75	H2	0
BMX Lança x NS 5700		M 5838 x NS 5700	
H1	25	H1	28,57
H2	75	H2	25
BMX Lança x P 95Y02		M 5838 x P 95Y02	
H1	14,29	H1	33,33
H2	50	H2	25
BMX Lança x TMG 7058		M 5838 x TMG 7058	
H1	12,5	H1	16,67
H2	0	H2	100
BMX Raio x BMX Zeus		NK 6201 x NS 5445	
H1	57,14	H1	0
H2	100	H2	0
BMX Raio x M 5838		NK 6201 x NS 5700	
H1	50	H1	0
H2	0	H2	0
BMX Raio x NK 6201		NK 6201 x P 95Y02	
H1	16,67	H1	0
H2	0	H2	0
BMX Raio x NS 5445		NK 6201 x TMG 7058	
H1	33,33	H1	20
H2	0	H2	0
BMX Raio x NS 5700		NS 5445 x NS 5700	
H1	40	H1	40
H2	16,67	H2	0
BMX Raio x P 95Y02		NS 5445 x P 95Y02	
H1	40	H1	40
H2	16,67	H2	20
BMX Raio x TMG 7058		NS 5445 x TMG 7058	
H1	16,67	H1	20
H2	16,67	H2	60
BMX Zeus x M 5838		NS 5700 x P 95Y02	
H1	50	H1	0
H2	0	H2	40
BMX Zeus x M 5838		NS 5700 x TMG 7058	
H1	0	H1	20
H2	50	H2	100

¹H1:09:00h-12:00h e H2:14:00h-17:00h

Fonte: autoria própria (2021)

Tabela 5 – Porcentagem de vagens sem sépalas (PVSS) obtidas de 36 combinações híbridas em dois períodos de hibridações artificiais, Pato Branco-PR, 2020/2021¹ (conclusão)

Períodos	PVSS	Períodos	PVSS
BMX Zeus x NS 5445		P 95Y02 x TMG 7058	
H1	0	H1	0
H2	50	H2	40

¹H1:09:00h-12:00h e H2:14:00h-17:00h

Fonte: Autoria própria (2021)

Foram realizados 418 cruzamentos artificiais, de 36 combinações híbridas entre os dois períodos do dia. Obteve-se 92 vagens sem sépalas, correspondendo a 22% do total de polinizações realizadas, totalizando 204 sementes (Tabela 6).

A maior porcentagem de vagens sem sépalas (PVSS) ocorreu no período H2 (14:00h-17:00h), contudo, apresentando valor muito próximo ao encontrado para H1 (09:00h-12:00h). Portanto, mesmo que em H2 tenham sido realizados um menor número de polinizações, o período apresentou maior número de vagens sem sépalas (NVSS) e conseqüentemente, um maior número de sementes produzidas (NSP) (Tabela 6). Todavia, o período H1 foi responsável pelo maior número de combinações híbridas que formaram vagens e sementes.

A média de PVSS foi superior a descrita por Talukdar e Shivakumar (2012) para hibridações em soja em condições de campo. Segundo os autores a porcentagem de sucesso dos cruzamentos artificiais a campo variam de 2-3% à 11-15%.

Destarte, no presente estudo, a maior taxa de pegamento, de 25,26%, ocorreu entre as 14h00 e 17:00h. Resultado semelhante foi obtido por Carpentieri-Pípolo, Vizoni e Giroto (2001) em cruzamentos artificiais realizadas em feijão vagem, sendo identificado como melhor horário para a realização dos cruzamentos às 15:00h, com taxa de pegamento entre 17 a 23%. Em trabalho desenvolvido com soja, Toledo *et al.* (1994 *apud* ROCHA, 2017) também identificaram, em condições de campo, taxa de pegamento de 30 a 35%, relatando que as polinizações foram mais eficientes após as 15:00h.

O período identificado com maior sucesso de pegamento está de acordo com o que foi identificado por Miyasaka e Silva (1958). Os autores indicam a realização de cruzamentos no período entre 08:00h e 09:00h da manhã e entre 15:00h e 17:00h da tarde. Este resultado corrobora com os apresentados por Harada, Destro e Fonseca (2003), que identificaram maior eficiência de hibridação em soja em cruzamentos realizados entre as 08h30 às 17h30.

Contudo, o horário identificado diverge do horário obtido por Matsuo (2012) e Matsuo *et al.* (2015), segundo o qual, a maior PVSS ocorreu no período entre as 10:00h as 12:00h. Entretanto, observaram maior porcentagem de vagens sem sépalas em cruzamentos realizados em temperatura média de 38,6 °C e umidade relativa de 34,1%, resultados semelhantes ao identificados neste trabalho em H2 (14:00h-17:00h).

Resultados divergentes também foram descritos por Rêgo *et al.* (2006) em experimento com feijão-caupi, no qual, a maior porcentagem de pegamento de 24,6% ocorreu em cruzamentos realizados pela manhã, enquanto os cruzamentos efetuados a tarde apresentaram eficiência de 2,9%, sendo associado a perda de viabilidade do pólen pela alta temperatura.

Tabela 6 – Número de polinizações realizadas (NPR), número de vagens sem sépalas (NVSS), número de sementes produzidas (NSP) e porcentagem de vagens sem sépalas (PVSS), das 36 combinações híbridas, em dois períodos de hibridações artificiais, Pato Branco-PR, 2020/2021

	Período de cruzamento ^{1,2}		Total
	H1	H2	
NPR	224 (53,59%)	194 (46,41%)	418
NVSS	43 (46,74%)	49 (53,26%)	92
NSP	96 (47,06%)	108 (52,94%)	204
PVSS (%)	19,20	25,26	

¹ H1:9:00-12:00h e H2:14:00h-17:00h;

² Valores entre parênteses indicam, em porcentagem, a representatividade de cada valor em relação ao total de cada item

Fonte: Aatoria própria (2021)

Um problema identificado após a realização das polinizações, que pode interferir no sucesso dos pegamentos, foi a presença dos insetos-pragas como as vaquinhas (*Diabrotica speciosa*), que se alimentavam das flores polinizadas. Uma medida para minimizar o problema foi a realização de aplicações com inseticidas, objetivando controlar o ataque dos insetos e diminuir danos a estrutura floral.

6 CONCLUSÃO

Identificou-se taxa de pegamento de 25,26% no período H2, correspondente ao horário das 14:00h às 17:00h, indicando maior eficiência das hibridações artificiais em soja quando realizadas neste período, em condições de campo.

No presente estudo não se observou a interferência da temperatura do ar e da umidade relativa sobre a eficiência das hibridações, em ambos os períodos analisados. Portanto, se faz necessário a realização de novos experimentos, utilizando um número maior de amostras e/ou fragmentar os horários de realização dos cruzamentos, trabalhando-se com intervalos menos abrangentes, desta forma, permitindo identificar uma menor variação entre umidade relativa e temperatura do ar dentro de cada período de cruzamento.

As sementes F_1 provenientes dos cruzamentos foram semeadas em estufa, contudo, até o presente momento, não foi possível realizar as avaliações fenotípicas de cor de flor. Deste modo, não se verificou a efetividade dos cruzamentos realizados a partir do uso de marcadores morfológicos.

As contribuições feitas aqui têm ampla aplicabilidade no melhoramento genético da soja, especialmente na etapa de hibridações artificiais realizadas a campo e nas condições de ambiente semelhantes à identificada para Pato Branco/PR.

REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, A. P.; *et al.* Improved method for increasing the efficacy of hybridization in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. **Indian J. Genet.**, Dharwad, v. 61, n. 1, p. 76-77, 2001.
- ALMEIDA, L. A. de; *et al.* Melhoramento da soja para regiões de baixas latitudes. *In*: QUEIRÓZ, M. A. de; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S.R.R. (eds.). Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro. Brasília, Distrito Federal: Embrapa, 1999.
- ARANTES, N. E.; KIIHL, R. A. S.; ALMEIDA, L. A. Melhoramento genético visando à resistência. *In*: SILVA, J. F. V. (org.). **O Nematóide de Cisto da Soja: A Experiência Brasileira**. Jaboticabal, São Paulo: Embrapa, 1999.
- BAGATELI, J. R. **Capacidade combinatória e heterose em cruzamentos dialélicos de soja**. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas, Foz do Iguaçu, 2013.
- BEZERRA, A. R. G.; *et al.* Atributos Agronômicos no Desenvolvimento de Cultivares. *In*: SILVA, F.; BORÉM, A.; SEDIYAMA, T.; LUDKE, W. (eds.). **Melhoramento da soja**. Viçosa, Minas Gerais: Ed. UFV, 2017.
- BHERING, L. L.; *et al.* Atributos Agronômicos no Desenvolvimento de Cultivares. *In*: SILVA, F.; BORÉM, A.; SEDIYAMA, T.; LUDKE, W. (eds.). **Melhoramento da soja**. Viçosa, Minas Gerais: Ed. UFV, 2017.
- BONATO, E. R. Melhoramento genético de soja. I. Híbridagens, sementes híbridas, populações segregantes e seleção de plantas. *In*: Embrapa. **Soja: resultados de pesquisa 1991-1992**. Passo Fundo: Embrapa, 1992.
- BONETTI, L. P. Cultivares e seu melhoramento genético. *In*: FUNDAÇÃO CARGILL. **Soja genética e melhoramento**, v. 2, p. 741-800, 1983.
- BORÉM, A.; ALMEIDA, L. A. de; KIIHL, R. A. de S. Hibridação em soja. *In*: BORÉM, A. (ed.). **Hibridação artificial de plantas**. Viçosa, Minas Gerais: Ed. UFV, 1999.
- BORÉM, A.; CAVASSIM, J. E. Blocos de Cruzamento. *In*: BORÉM, A. (ed.). **Hibridação artificial de plantas**. Viçosa, Minas Gerais: Ed. UFV, 1999.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: Ed. UFV, 6º ed. ver. e amp., 2013.
- CARPENTIERI-PÍPOLO, V.; VIZONI, É.; GIROTO, J. C. Determinação do melhor período para realização de cruzamento artificial em feijão-vagem, *Phaseolus vulgaris* L., em Londrina, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum.**, Maringá, v. 23, n. 5, p. 1991-1193, 2001.

CHUNG, G.; SINGH, R. J. Broadening the Genetic Base of Soybean: A Multidisciplinary Approach. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 27, n. 2, p. 295-341, 2008.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos: Safra 2020/21, 12º levantamento**. Brasília, v. 8, n. 12, set. 2021.

COSTA, M. I. A; *et al.* Morfometria reprodutiva e diversidade genética em cultivares de soja. **Nucleus**, v. 15, n. 2, p. 207-215, out. 2018.

DALMAGRO, C.; *et al.* Viabilidade de hibridações em soja em ambiente protegido e sem controle de temperatura e umidade. **Ver. Cultivando o Saber**, p. 47-53, 2019.

DARONCH, D. J.; *et al.* Combining ability of soybean cultivares in F₂, under conditions of cerrado tocantinense. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 30, n. 2, p. 688-695, out. 2014.

DAUERNHEIMER, R.; *et al.* Método de hibridação na cultura da soja. *In: 2º SIMPÓSIO DE AGRONOMIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS*, Itapiranga, 2015. **Anais [...]**. Itapiranga: FAI, 2015, p. 1-6.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária. **Soja brasileira: sucesso de norte a sul**. Londrina: Embrapa, Folder 04, abr., 2002a.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária. **A saga da soja no Brasil: uma trajetória de sucessos**. Londrina: Embrapa, Folder 12, ago., 2002b.

FEHR, W. R. Artificial Hybridization and self-pollination. *In: FEHR, W. R.; HADLEY, H. H. Hybridization of Crops Plants (Eds.). Hybridization of Crop Plants*. Madison, Wisconsin: Crop Science Society of America, 1980.

GILIOLI, J. L.; ALMEIDA, L. A.; KIIHL, R. A. S. **Aspectos sobre o melhoramento da soja [*Glycine max* (L.) Merrill]**. Londrina: Embrapa, 1980.

HARADA, A.; DESTRO, D.; FONSECA JR, N. da S. Cultivar x day period interaction effects on soybean artificial cross efficiency. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 45-48, 2003.

JUDD, W. S.; *et al.* **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. Porto Alegre: Artmed, 2009.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **CultivarWeb: Registro Nacional de Cultivares**. 2021. Disponível em: https://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php. Acesso em: 24 de out. de 2021.

MATSUO, É. **Resistência da soja a ferrugem asiática: hibridação, herança e identificação de marcadores microssatélites**. 2012. Tese de Doutorado – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.

MATSUO, É.; *et al.* Efficiency artificial hybridization in soybean during the summer depending on temperature and relative humidity. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 31, n. 6, p. 1663-1670, nov./dez. 2015.

MATSUO, E.; *et al.* Morfologia Vegetativa e Reprodutiva. *In*: SILVA, F.; BORÉM, A.; SEDIYAMA, T.; LUDKE, W. (Eds.). **Melhoramento da soja**. Viçosa, Minas Gerais: Ed. UFV, 2017.

MIYASAKA, S.; SILVA, J. G. da. Melhoramento da soja: II Melhoramento por hibridação. **Bragantia**, Campinas, v. 17, n. 16, p. 213-224, dez. 1958.

MULLER, L. Taxonomia e Morfologia. *In*: Miyasaka, S.; MEDINA, J. C. (Eds.). **A soja no Brasil**. 1 ed. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1981.

MUNICÍPIO DE PATO BRANCO. 2021. Disponível em: <https://patobranco.pr.gov.br/omunicipio/informacoes-gerais/>. Acesso em: 24 de out. 2021.

MUNIZ, F. R.S. **Análise da variabilidade genética em populações segregantes de soja**. 2007. Tese de Doutorado – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

NITSCHKE, P. R.; *et al.* Atlas Climático do estado do Paraná. Londrina: Instituto Agrônômico do Paraná, 2019.

PEIXOTO, J. R.; VILELA, M. S. Visão empresarial de um produtor rural/melhorista sobre o mercado de sementes. *In*: AMABILE, R. F.; VILELA, M. S.; PEIXOTO, J. R. **Melhoramento de plantas: variabilidade genética, ferramentas e mercado**. Brasília, Distrito Federal: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2018.

RÊGO, M. de S. C.; *et al.* Avaliação de métodos de cruzamentos artificiais em feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) WALP.]. 2006.

ROCHA, M. O. **Identificação de ambiente propício à hibridação da soja no Ceará**. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

SILVA, C. dos S. S.; *et al.* Importância Econômica e Evolução do Melhoramento. *In*: SILVA, F.; BORÉM, A.; SEDIYAMA, T.; LUDKE, W. (Eds.). **Melhoramento da soja**. Viçosa, Minas Gerais: Ed. UFV, 2017.

SILVEIRA, V. **Melhoramento Genético em Soja na COODETEC**. 1998. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1998.

TALUKDAR, A.; SHIVAKUMAR, M. Pollination without emasculation: an efficient method of hybridization in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). **Current Science**, New Delhi, v. 103, n. 6, p. 628-630, 2012.

TOLEDO, J. F. F.; *et al.* Genetics and breeding. *In*: KUENEMAN, E. (Ed.). **Tropical Soybean: improvement and production**. FAO – Plant Production and Protection Series, n. 27, Rome, Italy, 1994.

USDA. United States Department of Agriculture. **Oilseeds and Products Update**. 2021. Disponível em:
[https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/Report/DownloadReportByFileName?fileName=Oilseeds%20and%20Products%20Update Brasilia Brazil 07-01-2021.pdf](https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/Report/DownloadReportByFileName?fileName=Oilseeds%20and%20Products%20Update%20Brasilia%20Brazil%2007-01-2021.pdf).
Acesso em: 24 de out. 2021.

VOLLMAN, J.; *et al.*. Note on the efficiency of artificial hybridization in soybean. **Bodenkultur**, v. 43, n. 2, p. 123-127, 1992.