

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL – UFRGS
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

VALIDAÇÃO E ASSOCIAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES RELACIONADOS
À TOLERÂNCIA AO ALAGAMENTO EM SOJA (*Glycine max* (L.) Merr.)

Marília Ferreira da Silva
Engenheira Agrônoma/UFSM

Dissertação apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia
Área de concentração Sistemas de Produção Vegetal

Porto Alegre (RS), Brasil
Setembro de 2020

CIP - Catalogação na Publicação

Silva, Marília Ferreira
VALIDAÇÃO E ASSOCIAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES
RELACIONADOS À TOLERÂNCIA AO ALAGAMENTO EM SOJA
(Glycine max (L.) Merr.) / Marília Ferreira Silva. --
2020.
88 f.
Orientador: Christian Bredemeier.

Coorientador: Luisa de Oliveira Busatto.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS,
2020.

1. Marcadores moleculares. 2. Soja. 3. Resistência
ao alagamento. 4. Glydices max. I. Bredemeier,
Christian, orient. II. de Oliveira Busatto, Luisa,
coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

AGRADECIMENTOS

Agradeço a toda minha família por terem me proporcionado a oportunidade de concluir mais esta etapa em minha carreira.

Ao Prof. Christian Bredemeier pela orientação, ensinamentos e compreensão durante os dois anos e meio de orientação.

À minha coorientadora Luisa Abruzzi de Oliveira Busatto pelos ensinamentos, suporte em todas as etapas deste trabalho e pela excelência como coorientadora.

À Dra. Cecília Giordano e demais envolvidos em sua pesquisa de doutorado, que embasou o presente trabalho.

A Prof. Maria Helena Zanettinni pelo suporte e colaboração neste trabalho.

Ao Dr. Zenglu Li, da Universidade da Geórgia - UGA (EUA), pelo auxílio nas análises de genotipagem e pela parceria de pesquisa entre UFRGS e UGA.

Aos amigos e colegas do Grupo de Estudos em Agricultura Digital (GEAD) pelo ótimo convívio, dias de trabalho e pela contribuição neste trabalho.

Ao Darci Uhry e equipe do Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA) pela área, parceria e colaboração na realização do experimento a campo.

Aos doutores Camila Martini Zanella, Danielle Almeida e André Luis Vian, pela participação na banca examinadora deste trabalho.

Aos professores do Departamento de Plantas de Lavoura, pelos ensinamentos.

A todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para a concretização desta etapa e para meu crescimento pessoal e profissional.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVO GERAL.....	3
2.1 <i>Objetivos específicos</i>	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1 <i>Aspectos gerais da cultura da soja</i>	4
3.2 <i>A cultura da soja em áreas de terras baixas</i>	5
3.3 <i>Alterações fisiológicas em resposta ao alagamento</i>	7
3.4 <i>Avanços biotecnológicos para o desenvolvimento de plantas tolerantes ao alagamento</i>	10
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	14
4.1 <i>Resultados prévios</i>	14
4.2 <i>Painel de genótipos</i>	13
4.3 <i>Condições de crescimento e caracterização dos tratamentos</i>	21
4.4 <i>Material para análise molecular</i>	25
4.5 <i>Validação de marcadores candidatos</i>	25
4.6 <i>Variáveis avaliadas nos experimentos de campo</i>	28
4.6.1 <i>Produtividade (Experimentos 1 e 3)</i>	28
4.6.2 <i>Determinação de reflectância do dossel (NDVI) (Experimentos 3 e 4)</i>	28
4.6.3 <i>Mortalidade e retenção foliar (Experimentos 3 e 4)</i>	28
4.6.4 <i>Fenotipagem através da avaliação de notas (Avaliação visual)</i>	29
4.7 <i>Análise estatística</i>	29

	Página
5 RESULTADOS.....	31
6 DISCUSSÃO.....	57
7 CONCLUSÕES GERAIS.....	66
8 REFERÊNCIAS.....	67

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1. Genótipos de soja utilizados nos experimentos de estresse por alagamento.....	17
2. Análise química do solo.....	22
3. Resumo dos quatro experimentos de campo. EEA/IRGA, Cachoeirinha.....	24
4. Anotação dos genes e posição dos SNPs previamente identificados como putativamente associados à maior tolerância ao alagamento no genoma da soja.....	27
5. Análise associativa de marcadores SNPs para fenotipagem (escore visual) de genótipos brasileiros de soja em condições de alagamento no experimento 1.....	33
6. Análise associativa de marcadores SNPs para fenotipagem (escore visual) e produtividade de genótipos brasileiros de soja em condições de alagamento, no experimento 2.....	34
7. Análise associativa de marcadores SNPs para fenotipagem (escore visual) de genótipos brasileiros de soja em condições de alagamento no experimento 3.....	38
8. Análise associativa de marcadores SNPs para fenotipagem (escore visual) de genótipos brasileiros de soja em condições de alagamento no experimento 4.....	41
9. Comportamento diferencial dos marcadores SNPs para as variáveis produtividade, mortalidade, NDVI e retenção foliar em distintos genótipos brasileiros de soja em condições de alagamento.....	44
10. Comportamento diferencial dos marcadores SNPs para as variáveis mortalidade e NDVI em distintos genótipos brasileiros de soja em condições de alagamento.....	48
11. Marcadores SNPs significativos para as variáveis analisadas em cada experimento.....	50
12. Coeficiente de Correlação de Person para as características avaliadas nos experimentos 3 e 4.....	52

	Página
13. Marcadores moleculares recomendados para uso em seleção assistida para tolerância ao alagamento na cultura da soja.....	53
14. Genótipos associados à maior tolerância ao alagamento para os cinco SNPs previamente selecionados e avaliados.....	55

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1. Valores mensais de precipitação (mm); média das temperaturas máximas (T máx), e mínimas (T min) (°C) diárias do ar, durante a condução dos experimentos (safras 2017/2018 e 2018/2019).....	21
2. Experimento 4 - Soja estabelecida em microcamalhões submetida ao excesso hídrico durante cinco dias. Cachoeirinha-RS).	25
3. Nota visual de dano (1 a 9) de genótipos de soja submetidos ao tratamento de excesso hídrico (Lange et al. 2013, adaptado de Cornelius et al., 2005)	29
4. Gráficos de ensaios de reações em cadeia da polimerase competitiva alelo específica (KASP) de nove SNPs. A dispersão nos eixos X e Y representam discriminação alélica de um marcador específico para os genótipos de soja examinados. A genotipagem das cultivares é diferenciada em três classes genotípicas: duas homozigotas [pontos verdes e azuis (representadas pelos alelos GG, TT, CC, AA)] e uma heterozigota [pontos vermelhos (representadas pelos alelos, GT, CT, AG)] e uma heterozigota [pontos vermelhos (representadas pelos alelos, GT, CT, AG)].	54

1 INTRODUÇÃO

As plantas são constantemente expostas a condições adversas de crescimento, incluindo o estresse hídrico por falta ou excesso de água. Tais condições afetam negativamente o desenvolvimento das mesmas, impedindo que elas alcancem o seu potencial genético produtivo (Cramer *et al.*, 2011).

A ocorrência de períodos de alagamento é relativamente comum em áreas cultivadas, sendo um dos estresses abióticos de maior importância para a agricultura mundial. Sua frequência tem aumentado ao longo das últimas seis décadas, associada às mudanças climáticas, agravando os desafios globais para a segurança alimentar da crescente população (Bailey Serres *et al.*, 2012). Dentre as culturas de maior importância econômica, apenas as plantas de arroz (*Oryza sativa*) são adaptadas ao encharcamento do solo e todas são sensíveis à submersão total (Bailey Serres *et al.*, 2012).

No Brasil, a crescente expansão da soja [*Glycine max* (L.) Merr.] para novas fronteiras agrícolas com diferentes condições ambientais tem aumentado a demanda por novas estratégias que deem sustentabilidade à produção dessa cultura nos diferentes locais, cujo rendimento de grãos ainda é bastante afetado por diferentes estresses (Popp *et al.*, 2003; Assad *et al.*, 2007).

Em regiões de terras baixas no Estado do Rio Grande do Sul, a soja é cultivada como opção de cultivo em rotação de culturas com arroz irrigado. Essa rotação vem sendo intensificada em função da diversificação e do retorno econômico, do aumento da fertilidade do solo devido à fixação biológica do nitrogênio, do manejo de pragas e doenças e, principalmente, da dificuldade do controle de plantas daninhas, como o arroz vermelho. No entanto, a implantação da soja em terras baixas está sujeita a períodos de alagamento, haja vista que estas áreas caracterizam-se por apresentar

drenagem natural deficiente. Na soja, o estresse ocorre em função da rápida depleção de oxigênio no solo. Portanto, o volume de oxigênio dissolvido na água se torna insuficiente para manutenção do processo de respiração aeróbica dos tecidos radiculares sob excesso hídrico (Gomes *et al.*, 2006).

O custo metabólico e energético sofrido pelas plantas frente às condições adversas muitas vezes resulta em impactos negativos para a produção (Wang *et al.*, 2001). Na tentativa de manter o balanço energético, as plantas aprimoram a via anaeróbica, utilizando a glicólise e a fermentação para produzir substratos alternativos, como etanol e lactato (Taiz *et al.*, 2017). Além da baixa disponibilidade de oxigênio, que restringe a respiração das raízes, a fixação biológica de nitrogênio é afetada, limitando a disponibilidade deste nutriente para a síntese de proteínas e de outros compostos essenciais. Tais adversidades, aliadas ao atual cenário de crescimento da população mundial, têm levado à necessidade de desenvolvimento de novas tecnologias que visem uma maior produção agrícola, de forma sustentável, a fim de atender à crescente demanda por alimentos.

A cultura da soja pode ser considerada sensível ao alagamento, como a maioria das culturas agrícolas. No entanto, essa espécie possui ampla variabilidade genética em relação à tolerância ao alagamento, uma vez que é originária de áreas sujeitas a inundações no sul da China (Guo *et al.*, 2010). Como forma de adaptação em situações de alagamento, as plantas desenvolvem um conjunto de respostas fisiológicas, metabólicas, moleculares e genéticas, após a percepção do sinal externo, via cascata de respostas (Bray, 1993). Assim, a elucidação dessas respostas possibilita a otimização da seleção de cultivares mais adaptadas a ambientes sujeitos à ocorrência de alagamentos.

Diversos métodos de seleção podem ser utilizados para a identificação de cultivares com melhores combinações das características alvo. Os marcadores moleculares tem sido uma ferramenta poderosa para estimar a variação genética dentro e entre as populações de plantas. Na cultura da soja, os marcadores moleculares têm sido utilizados com sucesso, sendo os SNPs (do inglês “Single Nucleotide Polymorphism” – “Polimorfismos de Nucleotídeo Único”) um dos mais comumente utilizados para a seleção e mapeamento de regiões genômicas associadas com genes e QTLs (Quantitative Trait Loci) (Morceli *et al.*, 2008). Os SNPs

são uma fonte abundante de variabilidade genética e representam variações na sequência do DNA, quando um único nucleotídeo entre os indivíduos de uma espécie ou entre pares de cromossomos.

Em função disso, os SNPs têm sido pesquisados e utilizados como marcadores moleculares em programas de melhoramento genético assistido (MAS, do inglês “Molecular Assisted Selection”). Assim, os SNPs encontrados em genes candidatos aumentam a probabilidade de se estabelecer correlações entre fenótipo e genótipo (Ganal *et al.*, 2009; Vidal *et al.*, 2012). Diante dessa realidade, este trabalho visou identificar e validar marcadores moleculares do tipo SNPs potencialmente relacionados com a tolerância ao alagamento, em um painel de genótipos brasileiros de soja. Esse conhecimento é crucial para a identificação de potenciais genótipos de soja que possuam tolerância a solos com má drenagem e/ou áreas sujeitas a alagamentos.

2 OBJETIVO GERAL

Validar marcadores moleculares do tipo SNPs associados à tolerância ao alagamento em um painel de genótipos brasileiros de soja.

2.1 Objetivos específicos

- I. Avaliar fenotipicamente e fisiologicamente diferentes genótipos de soja quanto à tolerância/suscetibilidade ao alagamento.
- II. Verificar se os genótipos estudados apresentam variabilidade para os SNPs identificados previamente.
- III. Promover avanços na pesquisa de marcadores moleculares SNPs, para que possam ser utilizados em programas de melhoramento genético assistido, auxiliando na seleção de genótipos de soja com maior tolerância ao alagamento.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Aspectos gerais da cultura da soja

A soja cultivada (*Glycine max* L. Merrill), pertence à família *Fabaceae* (*Leguminosae*) e subfamília *Faboideae* (*Papilionoideae*) e apresenta a capacidade de fixar biologicamente o nitrogênio por intermédio da associação simbiótica com bactérias específicas do solo (Fabris *et al.*, 2011). A planta é originária do continente asiático, mais especificamente da região sul da China (Guo *et al.*, 2010). Trata-se de uma espécie herbácea, anual, diplóide ($2n = 40$ cromossomos), autógama, com taxa de fecundação cruzada em torno de 1 % (Sedyama *et al.*, 2005). A duração do ciclo é influenciada por condições ambientais, podendo variar de 80 a 200 dias (Sedyama *et al.*, 1985).

A soja é uma das principais culturas agrícolas no Brasil e no mundo, em função de seu alto potencial produtivo e características nutricionais. A difusão da cadeia produtiva da soja está ligada ao fato de sua utilização como ingrediente básico na formulação de rações para animais, devido ao seu alto valor proteico, especialmente para monogástricos, aves e suínos. Em média, o grão da soja possui 40 % de proteínas, 20 % de lipídeos, 5 % de minerais e 34 % de carboidratos (Embrapa Soja, 2017). Além do considerável teor de proteína, a soja destaca-se como sendo a principal fonte de óleo vegetal do mundo (Streck *et al.*, 2008). Quanto à composição mineral, a soja possui, a cada 100 gramas de grãos, 230 mg de cálcio; 580 mg de fósforo; 9,4 mg de ferro; 1 mg de sódio; 1900 mg de potássio; 220 mg de magnésio e 0,1 mg de cobre (Benassi & Prudêncio, 2013).

No Brasil, é a cultura que mais se destaca, tanto em área cultivada quanto em produção. Na safra 2019/20, foram cultivados cerca de 36,5 milhões de hectares, com produção de 120,4 milhões de toneladas de grãos (CONAB, 2020). A projeção até a

safr 2026/27 é um acréscimo de aproximadamente oito milhões de hectares na área cultivada de soja em relação à safr atual, podendo chegar a cerca de 44 milhões de hectares. Em relação à produção, projeta-se, para o mesmo período, aumento de 17,8 % em relação à safr 2019/20, com previsão de atingir 146,5 milhões de toneladas (MAPA, 2020).

O cultivo é distribuído em todas as regiões do país, sendo a Centro-Sul responsável por aproximadamente 90 % da produção. Os maiores produtores nacionais por ordem decrescente, são respectivamente os estados do Mato Grosso, Paraná, Rio Grande do Sul, Goiás e Mato Grosso do Sul (CONAB, 2020).

No Rio Grande do Sul (RS), a área cultivada com soja na safr 2019/20 cresceu 1 % em relação à safr anterior, atingindo 5,83 milhões de hectares, com produtividade média de 3,15 t ha⁻¹ (CONAB, 2020). No Brasil, a cultura vem mantendo a tendência de crescimento na área cultivada e, na safr 2019/20, a estimativa aponta para crescimento de 4,8 % em relação ao ciclo passado, esperando-se uma produção de 120,4 milhões de toneladas (CONAB, 2020). A oleaginosa representa uma importante *commodity* agrícola, sendo um produto, em grande parte, destinado à exportação. No entanto, sua produtividade potencial é acometida por diversos estresses abióticos, como temperaturas extremas, salinidade, metais pesados, seca e ocorrência de períodos de alagamento (Wang *et al.*, 2003; Miransari, 2016; Sabagh *et al.*, 2019).

3.2 A cultura da soja em áreas de terras baixas

O Estado do Rio Grande do Sul possui uma área de aproximadamente 5,4 milhões de hectares de solos hidromórficos, denominados solos de terras baixas ou de várzea. Esses solos são caracterizados por apresentarem uma camada superficial pouco espessa e subsuperficial impermeável, geralmente associado a um relevo plano (Pauletto *et al.*, 1998). Isso se deve à elevada densidade natural e à relação micro/macroporos desses solos (Gomes *et al.*, 1992), os quais afetam o desempenho do sistema radicular das plantas (Bamberg *et al.*, 2009).

Em decorrência da drenagem deficiente, os espaços porosos ficam saturados com água, o que acarreta uma série de alterações na dinâmica solo-planta (Bailey-Serres & Voesenek, 2008). Um solo é considerado alagado quando a fração de água

disponível na camada superficial é, no mínimo, 20 % maior do que a capacidade de campo ou se há uma lâmina de água em sua superfície (Aggarwal *et al.*, 2006).

Desse montante de 5,4 milhões de hectares, cerca de 3 milhões são destinados ao cultivo de arroz irrigado e/ou pecuária de corte, em um sistema consolidado de manejo. A diversificação e/ou incorporação de novas culturas nessas áreas, como soja e o milho (*Zea mays*), é uma alternativa para aumentar a eficiência do sistema produtivo (Emygdio *et al.*, 2015). Entretanto, para que a rotação de culturas seja vantajosa, é necessário estudar espécies e/ou cultivares que se adaptem às condições de alagamento no solo e que proporcionem retorno econômico ao produtor.

As razões para o incremento do cultivo da soja nessas áreas devem-se à alta infestação das áreas com arroz vermelho, o qual é um dos principais limitantes para o aumento da produtividade da cultura do arroz irrigado no estado do RS (Sartori *et al.*, 2015), além da cultura da soja ser rentável economicamente. Esse sistema de rotação torna possível a utilização de herbicidas com mecanismos de ação alternativos aos utilizados em lavouras arrozeiras, como o glifosato (Zemolin, 2014). Além disto, a soja pode ser considerada uma alternativa viável para cultivos em solos hidromórficos, haja vista a presença de variabilidade genética em relação à tolerância ao alagamento do solo (Thomas *et al.*, 2000; Pires *et al.*, 2002).

Nos solos hidromórficos do Estado do RS, a área cultivada com soja em novembro do ano agrícola 2018/19 foi de, aproximadamente, 320 mil hectares (IRGA, 2018), com produtividade média em torno de 2.430 kg ha⁻¹, abaixo da média estadual para o período (3.013 kg ha⁻¹). Apesar dos distintos cenários climáticos ao longo da safra, parte dessa diferença pode ser atribuída aos prejuízos provocados pelo alagamento, ocasionado pela dificuldade de drenagem nestes solos hidromórficos, principalmente quando ocorrem precipitações de maior intensidade.

Os genótipos podem manifestar tolerância (sobrevivendo e, às vezes, até crescendo, mesmo que em menores taxas), ou suscetibilidade (sofrendo redução do crescimento e, dependendo da intensidade do estresse, podendo chegar à morte) (Cabraia, 2005). Diversos trabalhos avaliando o desempenho diferencial de genótipos de soja sob condição de alagamento foram realizados. As plantas de soja apresentam mecanismos que permitem aclimação a condições de hipóxia geradas pelo alagamento do solo (Pires *et al.*, 2002). Thomas *et al.* (2000) demonstraram a

existência de variabilidade genética entre trinta genótipos de soja, submetidos ao alagamento em solos de várzeas. Missio *et al.* (2010) avaliaram o desempenho de diferentes genótipos de soja em solos de várzea, e verificaram que o rendimento de grãos apresentou diferenças significativas entre os genótipos estudados, sendo a linhagem JC 21198 a mais produtiva dentre os genótipos avaliados. Recentemente, foi realizado um estudo para avaliar a tolerância de 722 genótipos de soja ao alagamento, por meio de respostas do índice de dano foliar e da taxa de sobrevivência das plantas (Wu *et al.*, 2017b). Os resultados demonstraram que maioria dos genótipos foram considerados sensíveis enquanto apenas, cinquenta e dois genótipos mostraram tolerância ao alagamento (Wu *et al.*, 2017b).

Atualmente, os trabalhos possuem como objetivo identificar loci genéticos e genes candidatos associados a tolerância ao alagamento. Wu *et al.* (2020) avaliaram em dois anos consecutivos a tolerância ao alagamento em um painel de 384 genótipos de soja. A pontuação de dano foliar foi usada para ordenar a resposta da soja ao estresse por alagamento. Quatorze SNPs foram identificados como associados à tolerância ao alagamento em todos os ambientes. Cinco SNPs foram localizados nas regiões de codificação de cinco genes candidatos (Wu *et al.*, 2020). Conseqüentemente, um grande número de alelos relacionados a tolerância ao alagamento foram encontrados nesse trabalho, sendo importante como novas fontes genéticas para uso em programas de melhoramento da soja.

Essas considerações reforçam a necessidade de um enfoque sistemático nos estudos de estresse hídrico, com ênfase na elucidação dos mecanismos envolvidos no caráter tolerância ao alagamento do solo, para a recomendação de cultivares de soja e como suporte em programas de melhoramento da cultura.

3.3 Alterações fisiológicas em resposta ao alagamento

Para lidar com condições adversas, as plantas desenvolvem mecanismos específicos que lhes permitem detectar mudanças ambientais, desencadeando respostas complexas em níveis celulares e moleculares. Assim, visam minimizar ou evitar danos, garantindo a sobrevivência por meio da conservação de recursos valiosos para seu crescimento e reprodução (Rizhsky *et al.*, 2004; Mittler & Blumwald, 2010; Feng *et al.*, 2019).

O alagamento modifica a atmosfera do solo, pois promove deficiência de oxigênio (O_2), acúmulo de dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4), etileno (C_2H_4), gás sulfídrico (H_2S), e amônio (NH_4^+) em solução e redução da respiração aeróbica (Costa, 1996; Liesack *et al.*, 2000).

O alagamento do solo induz na planta múltiplos processos fisiológicos, como diminuição do crescimento radicular e da parte aérea, redução/ degradação no conteúdo de clorofila que está associada à coloração verde menos intensa das plântulas submetidas ao estresse em comparação com plantas não expostas, redução na captação de nutrientes e alteração da respiração mitocondrial (Dat *et al.*, 2004; Fernandez, 2006; Pocięcha *et al.*, 2008; Miao *et al.*, 2012). Além disso, o alagamento prejudica a formação dos nódulos, a fixação de nitrogênio atmosférico e a assimilação de carbono (Cho & Yamakawa, 2006). Em soja, quando a nodulação é comprometida, são observadas alterações na composição de aminoácidos nas raízes (Oliveira & Sodek, 2013) e no xilema (Justino & Sodek, 2013). Em virtude destes agravantes, a produtividade média histórica destas áreas sujeitas ao alagamento no estado do RS gira em torno de 1.900 kg ha^{-1} , bem abaixo da média das áreas de terras altas, que é de, aproximadamente, 3.350 kg ha^{-1} (IRGA, 2019).

O O_2 é vital no fornecimento de energia para as vias celulares e sua presença ou ausência determina a atividade metabólica e a produção de energia. Consequentemente, o alagamento prejudica a respiração da raiz, gerando declínio na taxa de ATP/ADP, restringindo a fosforilação oxidativa e, por conseguinte, gerando um déficit energético (Vartapetian & Jackson, 1997; Irfan *et al.*, 2010). Como alternativa de sobrevivência durante o período de estresse, ocorre indução de genes relacionados às rotas de degradação de reservas, glicólise e fermentação, visando manter o metabolismo energético (Dat *et al.*, 2004; Bailey-Serres & Voesenek, 2008; Colmer & Voesenek, 2009; Voesenek & Bailey-Serres, 2015). Ocorre também a alteração na expressão de genes em raízes e hipocótilo da plântula da soja (Nanjo *et al.*, 2011).

O estresse nas raízes sob alagamento é intensificado com o tempo, com a passagem de hipóxia para anoxia (ausência de oxigênio), e pela ação de toxinas produzidas por bactérias anaeróbicas do solo. Os danos causados pelo alagamento do solo variam de acordo com o estágio de desenvolvimento da cultura, mas, de forma geral, a redução na germinação, no crescimento e no rendimento de grãos é mais

acentuada quanto maior for à duração do período de alagamento (Rhine *et al.*, 2010). Comumente, a soja é considerada mais suscetível a danos por inundação durante os estágios reprodutivos iniciais [em torno de R2; (Fehr & Caviness, 1977; Rhine *et al.*, 2010)]. Na soja, as reduções de rendimento de grãos foram maiores quando o solo estava alagado em R1 ou R5 em comparação com o estágio de crescimento V5 (Rhine *et al.*, 2010). Outro estudo mostrou que os estágios vegetativo inicial (V2) e reprodutivo (R1, R2, R3, R5) da soja foram os mais afetados pelo alagamento do solo em comparação com os estágios de crescimento vegetativo tardio (V3, V7) e reprodutivo (R6) (Linkemer, Board, & Musgrave, 1998). Os resultados destas pesquisas indicam que o estágio de crescimento da cultura no momento da inundação ou alagamento é um determinante importante da magnitude do dano causado pelo estresse do alagamento nas plantas.

De forma geral, na fase inicial do estresse por alagamento, tem-se uma aclimação metabólica por meio da indução da síntese das chamadas "proteínas de estresse anaeróbico", que incluem as enzimas da via glicolítica e fermentativa, o que podem ajudar as plantas a tolerar a hipóxia nas raízes (Irfan *et al.*, 2010). Em casos de estresses mais severos, as plantas induzem a biossíntese de etileno (Vriezen *et al.*, 1999; Komatsu & Ahsan, 2009; Sasidharan & Voesenek, 2015), o afrouxamento da parede celular (Komatsu *et al.*, 2011) e a formação de aerênquima (Shimamura *et al.*, 2010).

A reprogramação dos padrões de expressão gênica é um dos mecanismos-chave na adaptação (tanto em nível molecular, quanto fisiológico e bioquímico) das plantas às condições ambientais limitantes (Bartels & Sunkar, 2005). A reprogramação visa à restauração da homeostase celular, compreendendo genes e vias que estão na base da resistência ao estresse abiótico, sendo parte integrante da regulação gênica global. Portanto, a elucidação dos mecanismos envolvidos na resposta das plantas de soja ao estresse por alagamento é imprescindível para desenvolver cultivares tolerantes que reduzam as perdas de produtividade devido ao estresse.

3.4 Avanços biotecnológicos para o desenvolvimento de plantas tolerantes ao alagamento

O advento de sequenciadores da nova geração tem revolucionado a forma pela qual transcriptomas de eucariotos podem ser analisados. A análise do transcriptoma apresenta grande potencial para predizer marcadores moleculares de interesse agrônomo. O marcador molecular corresponde a sequências de DNA que revelam polimorfismos entre indivíduos geneticamente relacionados (Hayward *et al.*, 2015). As novas tecnologias de sequenciamento de DNA e/ou RNA, denominadas de tecnologias de sequenciamento de nova geração possibilitam gerar um conjunto de dados, apresentando consequentemente diversas aplicações, que incluem a identificação de cultivares, análise de expressão gênica e genotipagem de populações, análise de diversidade genética, detecção de associações genótipo x fenótipo, modificações de histonas, identificação de *splicing* e análise de interações proteína-DNA (Shedure e Ji, 2008; Elshire *et al.*, 2011; Mastrangelo *et al.*, 2012).

O desenvolvimento de métodos de sequenciamento de nova geração tornou os polimorfismos de única base (SNPs) extremamente empregados como marcadores genéticos (Ganal *et al.*, 2009; Kumar *et al.*, 2012; Crossa *et al.*, 2017; Guo *et al.*, 2018). Estes são marcadores estáveis, sendo excelentes para estudos de características genéticas, permitindo a identificação em larga escala e com baixo custo (Jehan & Lakhanpaul, 2006). Deste modo, os SNPs tornam-se fontes inesgotáveis de possíveis marcadores polimórficos para uso no mapeamento genético de alta resolução, assim como para o estudo de associação baseados em genes candidatos (Rafalski, 2002; Zhang *et al.*, 2019).

Os SNPs estão presentes ao longo de todo o genoma e são importante fonte de variabilidade entre indivíduos, cultivares ou espécies. Em geral, os marcadores SNPs são bi-alélicos, ou seja, são encontradas apenas duas variantes em uma espécie, que podem ocorrer em regiões codificadoras ou com função regulatória. Portanto, a distribuição dos SNPs varia no genoma, sendo menos frequente em regiões codificadoras que nas não-codificadoras (Liao & Lee, 2010).

Nas regiões codificantes, as mutações são categorizadas em duas classes: não sinônimas, as quais alteram a sequência do produto proteico, ou sinônimas, que não afetam a estrutura primária dos produtos. No entanto, um SNP sinônimo pode

modificar a estrutura e a estabilidade do RNA mensageiro e, conseqüentemente, afetar a quantidade de proteína produzida (Griffiths *et al.*, 2001). Além disso, SNPs podem ocasionar *splicing* alternativo, gerar ou suprimir códons de terminação ou poliadenilação na molécula de RNA mensageiro e alterar códons de iniciação de tradução (Liao & Lee, 2010).

Diversos métodos de alto rendimento têm sido usados para identificar SNPs, como o sequenciamento de todo o genoma, sequenciamento de RNA, sequenciamento de DNA e digestão com enzimas de restrição (Davey *et al.*, 2011). Na maior parte das vezes, entretanto, os SNPs são encontrados em espaços intergênicos, sem função determinada (Rafalski, 2002). Assim, recentemente, o sequenciamento do transcrito, ou RNA-seq, tornou-se uma das técnicas baseadas em sequenciamento de alto rendimento mais representativas devido à sua alta precisão e alto rendimento (Zhao *et al.*, 2019). Portanto, milhares de SNPs podem ser descobertos e os níveis de expressão de genes funcionais com variações de sequência podem ser observados simultaneamente a um custo razoável (Zhao *et al.*, 2019). A localização das variações nas regiões codificantes associadas as características biológicas e agrônômicas da planta podem ser identificadas e os fenótipos podem ser previstos de acordo com os genótipos (Ganal *et al.*, 2009; Vidal *et al.*, 2012).

Uma vez identificados, os SNPs estarão disponíveis para genotipagem em larga escala. As metodologias disponíveis para genotipagem incluem o ARMS-PCR (Tetra-primer Amplification Refractory Mutation System PCR), CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence), SSCP (Single-Strand Conformational Polymorphism), KASP (Kompetitive Allele Specific PCR), TaqMan, PCR em tempo real e técnicas baseadas em sequenciamento (Munerato, 2005; Ayalew *et al.*, 2019; Hashim e Al-Shuhaib, 2019). Os marcadores SNP podem ser visualizados por meio do ensaio de PCR específico para alelos competitivos (KASP) capaz de estabelecer uma plataforma de genotipagem de alto rendimento para seleção assistida dos gene alvo (Rasheed *et al.*, 2016). O KASP foi desenvolvido como o objetivo de reduzir custos e melhorar a eficiência da genotipagem. Os marcadores KASP-SNP são altamente precisos e altamente flexíveis e com uma ampla variedade de aplicações (Yuan *et al.*, 2014; Rasheed *et al.*, 2016; Steele *et al.*, 2018).

Os SNPs vêm ganhando muito espaço em estudos de análises gênicas em plantas, como em trabalhos realizados em soja (Zhu *et al.*, 2003; Choi *et al.*, 2007; Ravelombola *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2019). A identificação desses SNPs tem uma grande aplicação em melhoramento genético de plantas, pois os mesmos podem ser utilizados como marcadores moleculares para genotipagem. Assim, técnicas de fenotipagem e genotipagem confiáveis podem contribuir para a seleção de genótipos de soja com menores impactos frente ao alagamento. Portanto, a genotipagem e a compreensão de mecanismos fisiológicos e das bases moleculares desses genótipos podem ser úteis para programas de melhoramento e para o desenvolvimento de cultivares de soja mais tolerantes ao alagamento, assim como auxiliar na seleção assistida, contribuindo para a redução de danos ocasionados por este estresse.

Nas últimas décadas, esforços foram dedicados na identificação de potenciais genes / QTLs e no desenvolvimento de estratégias de seleção. Esta seleção é embasada em estudos de fenotipagem, que tem por objetivo validar caracteres morfológicos, bioquímicos e moleculares relacionados com a tolerância ao alagamento em materiais disponíveis em bancos de germoplasmas e avaliar a expressão desses caracteres, proporcionando subsídio para estudos genômicos. No que diz respeito à variação fenotípica, van Veen *et al.* (2016) identificaram em plantas de *Arabidopsis thaliana*, 126 genes putativos de 'tolerância' ao alagamento, induzidos de maneira diferente em acessos tolerantes e sensíveis.

Assim, a aplicação de tecnologias de fenotipagem e genotipagem de alto rendimento é essencial para o sucesso de programas de melhoramento. As plataformas de fenotipagem que visualizam a arquitetura do sistema radicular e monitoram o status do dossel devem ter prioridade. Os dados de refletância espectral do dossel podem ser medidos com alto rendimento, por meio de sensoriamento remoto e geração de imagens. Pesquisas recentes em soja mostraram que a refletância espectral nos comprimentos de onda no infravermelho próximo (730-1305 nm) está altamente correlacionada com características agrônômicas (Christenson *et al.*, 2015).

Até o momento, vários estudos foram realizados para revelar a base genética subjacente da tolerância ao alagamento em soja e numerosas regiões genômicas associadas à tolerância foram identificadas (Osman *et al.*, 2013; Valliyodan *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2019; Wu *et al.*, 2020). Os QTLs associados à tolerância ao

alagamento em soja podem ser usados na estratégia de seleção assistida por marcadores.

O estudo de associação genômica ampla (GWAS) é uma ferramenta eficiente para detectar SNPs associados a importantes características quantitativas complexas e prever ou identificar genes causais (Brachi *et al.* 2011; Shoemaker *et al.*, 2008; Assefa *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2020). Nos últimos anos, o GWAS tem sido amplamente utilizado para mapeamento de associações para dissecar a arquitetura genética de características complexas em várias espécies, incluindo soja (Wang *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2020). A introgressão da tolerância em plantas de importância econômica tem sido uma abordagem eficaz para lidar com os efeitos do alagamento, reduzindo as perdas de produtividade por este estresse. Assim, faz-se necessário explorar abordagens práticas, como a combinação de GWAS para identificação de QTL com análise de associação de SNP com características fenotípicas de tolerância alagamento.

8 REFERÊNCIAS

- AGGARWAL, P. K. *et al.* Infocrop: a dynamic simulation model for the assessment of crop yields losses due to pests, and environmental impact of agro-ecosystems in tropical environments. **Agricultural Systems**, Barking, v. 89, n. 1, p. 1-25, 2006.
- ALMEIDA, T. S. *et al.* Grain yield of different soybean genotypes cultivated in lowland soils in three sowing times. **Ciência Agrícola**, Lavras, v. 17, n. 1, p. 1-6, 2019.
- ASSAD, E. D. *et al.* Forecast system of soybean crop yield for Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 42, n. 5, p. 615-625, 2007.
- ASSEFA, T. *et al.* Deconstructing the genetic architecture of iron deficiency chlorosis in soybean using genome-wide approaches. **BMC Plant Biology**, London, v. 20, n. 1, [art.] 42, [p. 1-13], 2020.
- AYALEW, H. *et al.* Comparison of TaqMan, KASP and rhAMP SNP genotyping platforms in hexaploid wheat. **PLOS ONE**, San Francisco, v.14, n. 5, [art.] e0217222, [p. 1-9], 2019.
- BAILEY-SERRES, J.; VOESENEK, L. A. C. J. Flooding stress: acclimations and genetic diversity. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 59, p. 313-339, 2008.
- BAILEY-SERRES, J. *et al.* Making sense of low oxygen sensing. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 17, n. 3, p. 129-138, 2012.
- BAMBERG, A. L. *et al.* Densidade de um planossolo sob sistemas de cultivo avaliada por meio da tomografia computadorizada de raios gama. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 33, n. 5, p. 1079-1086, 2009.
- BARTELS, D.; SUNKAR, R. Drought and salt tolerance in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Philadelphia, v. 24, n. 1, p. 23-58, 2005.
- BENASSI, V. T.; PRUDÊNCIO, S. H. Impactos do processamento de soja na retenção de minerais, isoflavonas e proteínas em tofus. **Brazilian Journal of Food and Nutrition**, Araraquara, v. 24, n. 1, p. 51-59, 2013.
- BEUTLER, A. N. *et al.* Soil hydric excess and soybean yield and development in Brazil. **Australian Journal of Crop Science**, Brisbane, v. 8, n. 10, p. 1461-1466, 2014.
- BRACHI, B.; MORRIS, G.; BOREVITZ, J. O. Genome-wide association studies in plants: the missing heritability is in the field. **Genome Biology**, London, v. 12, n. 10, [art.] 232, [p. 1-8], 2011.

BRANCO-PRICE, C. *et al.* Genome-wide analysis of transcript abundance and translation in arabidopsis seedlings subjected to oxygen deprivation. **Annals of Botany**, London, v. 96, n. 4, p. 647-660, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Projeções do Agronegócio. Brasil 2016/17 a 2026/27 – projeções de longo prazo**. Brasília, DF: MAPA, 2017. 125 p. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/todas-publicacoes-de-politica-agricola/projecoes-do-agronegocio/projecoes-do-agronegocio-2017-a-2027-versao-preliminar-25-07-17.pdf>. Acesso em: 22 dez. 2020.

BRAY, E. A. Molecular responses to water deficit. **Plant Physiology**, Lancaster v. 103, n. 4, p. 1035-1040, 1993.

CAMBRAIA, J. Aspectos bioquímicos, celulares e fisiológicos dos estresses nutricionais em plantas. *In*: NOGUEIRA, R. J. M. C. *et al.* (ed.). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife: UFRPE, 2005. cap. 2, p. 95-105.

CHANDLER, J. W. Class VIIIb APETALA2 ethylene response factors in plant development. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 23, n. 2, p. 151-162, 2018.

CHO, J.; YAMAKAWA T. Effects on growth and seed yield of small seed soybean cultivars of flooding conditions in paddy field. **Journal of the Faculty of Agriculture**, Tottori, v. 51, n. 2, p. 189-193, 2006.

CHOI, I. Y. *et al.* A soybean transcript map: gene distribution, haplotype and singlenucleotide polymorphism analysis. **Genetics**, Austin, v. 176, n. 1, p. 685-696, 2007.

CHRISTENSON, B. S. *et al.* Characterizing changes in soybean spectral response curves with breeding advancements. **Crop Science**, Madison, v. 54, n. 4, p. 1585-1597, 2015.

COLMER, T. D.; VOESENEK, L. A. C. J. Flooding tolerance: suites of plant traits in variable environments. **Functional Plant Biology**, Melbourne, v. 36, n. 8, p. 665-681, 2009.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Safra 2014/2015: primeiro levantamento. **Acompanhamento da Safra Brasileira: grãos**, Brasília, DF, v. 2, n. 1, p. 1-89, out. 2014.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Safra 2019/2020: décimo primeiro levantamento. **Acompanhamento da Safra Brasileira: grãos**, Brasília, DF, v. 7, n. 11, p. 1-62, ago. 2020.

COSTA, J. A. **Cultura da soja**. Porto Alegre: Evangraf, 1996.

CORNELIOUS, B. *et al.* Identification of QTLs underlying water-logging tolerance in soybean. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 16, n. 2, p. 103-112, 2005.

COUTINHO, I. *et al.* Flooded soybean metabolomic analysis reveals important primary and secondary metabolites involved in the hypoxia stress response and tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 153, p. 176-187, 2018.

CRAMER, G. R. *et al.* Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. **BMC Plant Biology**, London, v. 11, [art.] 163, [p. 1-14], 2011.

CROSSA, J. *et al.* Genomic selection in plant breeding: methods, models, and perspectives. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 22, n. 11, p. 961-975, 2017.

DAT, J. F. *et al.* Sensing and signalling during plant flooding. **Plant Physiology and Biochemistry**, Los Angeles, v. 42, n. 4, p. 273-282, 2004.

DAVEY, J. W. *et al.* Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. **Nature Reviews Genetics**, London, v. 12, n. 7, p. 499-510, 2011.

DAY, I. S. *et al.* Analysis of EF-hand-containing proteins in Arabidopsis. **Genome Biology**, London, v. 3, n. 10, p. 1-24, 2002.

DHUNGANA, S. K. *et al.* Evaluation of flooding tolerance of soybean (*Glycine max* L. Merr.) in greenhouse under upland and paddy soil conditions. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, Seoul, v. 22, n. 3, p. 283-290, 2019.

DHUNGANA, S. K. *et al.* Identification of QTL for tolerance to flooding stress at seedling stage of soybean (*Glycine max* L. Merr.). **Agronomy**, Basel, v. 11, n. 5, [art.] 908, [p. 1-12], 2021.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Washington, DC, v. 12, p. 13-15, 1990.

ELSHIRE, R. J. *et al.* A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. **PLOS ONE**, San Francisco, v. 6, n. 5, [art.] e19379, 2011.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Soja na alimentação**. Londrina: Embrapa Soja, 2017. Disponível em: http://www.cnpso.embrapa.br/soja_alimentacao/index.php?pagina=23. Acesso em: 7 mar. 2017.

EMYGDIO, B. M.; ROSA, A. P. S. A.; SILVA, J. J. C. Cultivo de milho em terras baixas: cultivares BT x convencional. **Revista SEED News**, Pelotas, v. 19, n. 4, p. 24-25, 2015.

FABRIS, S. R.; FABRIS, J. P.; DULLIUS, A. I. S. Análise da produção da cultura da soja no Brasil através dos modelos ARIMA. **Revista Geintec**, Aracajú, v. 1, n. 2, p. 49-56, 2011.

FEHR, W. *et al.* Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine Max* (L.) Merrill. **Crop Science**, Madison, v. 11, n. 6, p. 929-931, 1977.

FENG, Z. *et al.* Applications of metabolomics in the research of soybean plant under abiotic stress. **Food Chemistry**, Barking, v. 310, [art.] 125914, 2020.

FERNANDEZ, M. D. Changes in photosynthesis and fluorescence in response to flooding in emerged and submerged leaves of *Pouteria orinocoensis*. **Photosynthetica**, Prague, v. 44, n. 1, p. 32-38, 2006.

GANAL, M. W.; ALTMANN, T.; SRÖDER, M. SNP identification in crop plants. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 12, n. 2, p. 211-217, 2009.

GIORDANO, C. **Fenotipagem de cultivares de soja submetidas ao excesso hídrico em áreas de terras baixas**. 2018. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

GITHIRI, S. M. *et al.* QTL analysis of flooding tolerance in soybean at an early vegetative growth stage. **Plant Breeding**, Berlin, v. 125, n. 6, p. 613-618, 2006.

GOMES, A. S. *et al.* Solos de várzea: uso e manejo. *In*: MARCANTONIO, G. **Solos e irrigação**. Porto Alegre: UFRGS, 1992. cap. 5, p. 64-79.

GOMES, A. S. *et al.* **Caracterização de indicadores de qualidade do solo, com ênfase as áreas de várzea do Rio Grande do Sul**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006. 40 p.

GONZALI, S. *et al.* The use of microarrays to study the anaerobic response in *Arabidopsis*. **Annals of Botany**, London, v. 96, n. 4, p. 661-668, 2005.

GRIFFITHS, A. J. F. *et al.* **Genética moderna**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

GUO, J. *et al.* A single origin and moderate bottleneck during domestication of soybean (*Glycine max*): Implications from microsatellites and nucleotide sequences. **Annals of Botany**, London, v. 106, n. 3, p. 505-514, 2010.

GUO, Y. *et al.* Gene-based SNP identification and validation in soybean using next-generation transcriptome sequencing. **Molecular Genetics and Genomics**, Berlin, v. 293, n. 5, p. 623-633, 2018.

HA, B. K.; BOERMA, H. R. High-throughput SNP genotype by melting curve analysis for resistance to southern root-knot nematode and Frogeye leaf spot in soybean. **Journal of Crop Science Biotechnology**, Berna, v. 11, n. 2, p. 91-100, 2008.

HARPER, J. F.; BRETON, G.; HARMON, A. Decoding Ca²⁺ signals through plant protein kinases. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 55, p. 263-288, 2004.

- HASHIM, H. O.; AI-SHUHAIB, M. B. S. Exploring the potential and limitations of PCR-RFLP and PCR-SSCP for SNP detection: a review. **Journal of Applied Biotechnology Reports**, Tehran, v. 6, n. 4, p. 137-144, 2019.
- HAYWARD, A. R. *et al.* Molecular markers application in plants. **Methods in Molecular Biology**, Totowa, v. 2015, [art.] 1245, [p. 13-20], 2015.
- HOMRICH, M. S. *et al.* Soybean genetic transformation: a valuable tool for the functional study of genes and the production of agronomically improved plants. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 35, n. 4, p. 998–1010, 2012.
- HU, Z. *et al.* Association mapping of yield-related traits and SSR markers in wild soybean (*Glycine soja* Sieb. and Zucc.). **Breeding Science**, Tokyo, v. 63, n. 5, p. 441-449, 2014.
- HYTEN, D. L. *et al.* Impacts of genetic bottlenecks on soybean genome diversity. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, DC, v. 103, n. 45, p. 16666-16671, 2006.
- IRFAN, M. *et al.* Physiological and biochemical changes in plants under waterlogging. **Protoplasma**, Wien, v. 241, n. 1/4, p. 3-17, 2010.
- IRGA - INSTITUTO RIO GRANDENSE DO ARROZ. **Safras**: soja em rotação com arroz. Porto Alegre: IRGA, 2018a. Disponível em: <http://irga.rs.gov.br/safras-2>. Acesso em: 12 dez. 2018.
- IRGA - INSTITUTO RIO GRANDENSE DO ARROZ. **Soja 6000**: manejo para alta produtividade em terras baixas. 2. ed. rev. e atual. Porto Alegre: RJR, 2018b.
- JEHAN, T.; LAKHANPAUL, S. Single Nucleotide Polymorphism (SNP) - Methods and application in plant genetics: a review. **Indian Journal of Biotechnology**, New Delhi, v. 5, n. 4, p. 435-459, 2006.
- JOHNSON, D. C. *et al.* Structure, function and formation of biological iron-sulfur clusters. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 74, p. 247-281, 2005.
- JUNG, K. H. *et al.* The submergence tolerance regulator Sub1A mediates stress-responsive expression of AP2/ERF transcription factors. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 152, n. 3, p. 1674-1692, 2010.
- JUSTINO, G. C.; SODEL, L. Recovery of nitrogen fixation after short-term flooding of the nodulated root system of soybean. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 170, n. 3, p. 235-241, 2013.
- KASPARY, T. E. *et al.* Expression of genes related to soil flooding tolerance in soybeans. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 41, [art.] e42709, [p. 1-11], 2019.

KOMATSU, S.; AHSAN, N. Soybean proteomics and its application to functional analysis. **Journal of Proteomics**, Amsterdam, v. 72, n. 3, p. 325-336, 2009.

KOMATSU, S. *et al.* Characterization of a novel flooding stress-responsive alcohol dehydrogenase expressed in soybean roots. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 77, n. 3, p. 309-322, 2011.

KRIZEK, B. AINTEGUMENTA and AINTEGUMENTA-LIKE6 act redundantly to regulate *Arabidopsis* floral growth and patterning. **Plant Physiology**, Dordrecht, v. 150, n. 4, p. 1916-1929, 2009.

KUMAR, S.; YOU, F. M.; CLOUTIER, S. Genome wide SNP discovery in flax through next generation sequencing of reduced representation libraries. **BMC Genomics**, London, v. 13, [art.] 684, [p. 1-11], 2012.

KUSWANTORO, H. Response of soybean genotypes to waterlogging. **Journal Agronomi Indonesia**, Bogor, v. 39, n. 1, p. 19-23, 2011.

KWOK, P. Y. Methods for genotyping single nucleotide polymorphisms. **Annual Review of Genomics and Human Genetic**, Palo Alto, v. 2, p. 235-258, 2001.

LI, L. H. *et al.* Differentiation and genetic diversity of SSR molecular markers for Huanghuai and southern summer sowing soybean in China. **Acta Agronomica Sinica**, Beijing, v. 31, n. 1, p. 777-783, 2005.

LI, R. *et al.* Combined linkage mapping and BSA to identify QTL and candidate genes for plant height and the number of nodes on the main stem in soybean. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 21, n. 1, p. 42-59, 2019.

LIAO, P.; LEE, K. H. From SNPs to functional polymorphism: the insight into biotechnology applications. **Biochemical and Engineering Journal**, Amsterdam, v. 49, n. 2, p. 149-158, 2010.

LICAUSI, F.; OHME-TAKAGI, M.; PERATA, P. APETALA2/Ethylene Responsive Factor (AP2/ERF) transcription factors: mediators of stress responses and developmental programs. **New Phytologist**, London, v. 199, n. 3, p. 639-649, 2013.

LIESACK, W.; SCHNELL, S.; REVSBECH, N. P. Microbiology of flooded rice paddies. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 24, n. 5, p. 625-645, 2000.

LILL, R.; MÜHLENHOFF, U. Maturation of iron-sulfur proteins in eukaryotes: mechanisms, connected processes, and diseases. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 77, p. 669-700, 2008.

LINKEMER, G.; BOARD, J. E.; MUSGRAVE, M. E. Waterlogging effects on growth and yield components in late-planted soybean. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 6, p. 1576-1584, 1998.

LIU, F. *et al.* Global transcription profiling reveals comprehensive insights into hypoxic response in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 137, n. 3, p. 1115-1129, 2005.

LUKINA, E. V.; STONE, M. L.; RAUN, W. R. Estimating vegetation coverage in wheat using digital images. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 22, n. 11, p. 341-350, 1999.

MANISH, K. P. *et al.* Development and evaluation of a high-density genotyping 'Axiom_Arachis' array with 58 K SNPs for accelerating genetics and breeding in groundnut. **Scientific Report**, London, v. 7, [art.] 40577, [p. 1-10], 2017.

MASTRANGELO, A. M. *et al.* Alternative splicing: enhancing ability to cope with stress via transcriptome plasticity. **Plant Science**, Limerick, v. 185/186, p. 40-49, 2012.

MIAO, S. *et al.* Effects of short-term drought and flooding on soybean nodulation and yield at key nodulation stage under pot culture. **Journal of Food Agriculture Environment**, Helsinki, v. 10, n. 3, p. 819-824, 2012.

MIQUELONI, D.; SIMEÃO, R.; ASSIS, G. Seleção genômica ampla (GWS) e associação genômica ampla (GWAS) no melhoramento de forrageiras: abordagem conceitual, genética quantitativa e aplicações. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 16, n. 30, p. 556-582, 2019. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/208252/1/Selecao-genomica-ampla-2019.pdf>. Acesso em: 24 maio 2020.

MIRANSARI, M. Enhancing soybean response to biotic and abiotic stress. *In*: MIRANSARI, M. (ed.). **Abiotic and biotic stress in soybean production: soybean production**. Amsterdam: Elsevier, 2016. p. 53-77.

MISSIO, E. L. *et al.* Desempenho de genótipos de soja em solo hidromórfico de várzea. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 16, n. 1/2, p. 23-29, 2010.

MITTLER, R.; BLUMWALD, E. Genetic engineering for modern agriculture: challenges and perspectives. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 61, p. 443-462, 2010.

MIZOI, J.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. AP2/ERF family transcription factors in plant abiotic stress responses. **Biochimica et Biophysica Acta**, Shangai, v. 1819, n. 2, p. 86-96, 2012.

MOKUA, J. A. K. **Field screening of diverse soybean cultivars for flood tolerance**. 2015. Thesis (Master's) - University of Arkansas, Fayetteville, 2015.

MORCELI, T. G. S. *et al.* Identificação e validação de marcadores microssatélites ligados ao gene Rpp5 de resistência a ferrugem asiática da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 43, n. 11, p. 1525-1531, 2008.

MUNERATO, P. **Identificação de SNPs e genotipagem através de eletroforese capilar e sistema de detecção de seqüência**. São Paulo: ABI EXPERT Training Center-Applied Biosystems, 2005.

NANJO, Y. *et al.* Transcriptional responses to flooding stress in roots including hypocotyl of soybean seedlings. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 77, n. 1/2, p. 129-144, 2011.

NEELAM, K.; BROWN-GUEDIRA, G.; HUANG, L. Development and validation of a breeder-friendly KASPar marker for wheat leaf rust resistance locus Lr21. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 31, p. 233–237, 2013.

NGUYEN, L. V. *et al.* Mapping quantitative trait loci for root development under hypoxia conditions in soybean (*Glycine max* L. Merr.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 130, n. 4, p. 743-755, 2017.

OLIVEIRA, H. C.; SODEK, L. Effect of oxygen deficiency on nitrogen assimilation and amino acid metabolism of soybean root segments. **Amino Acids**, Wien, v. 44, n. 2, p. 743-755, 2013.

OSMAN, K. A. *et al.* Dynamic QTL analysis and candidate gene mapping for waterlogging tolerance at maize seedling stage. **PLOS ONE**, San Francisco, v. 8, n. 11, [art.] e79305, [p. 1-10], 2013.

PATEL, P. K. *et al.* Flooding: abiotic constraint limiting vegetable productivity. **Advances in Plants & Agriculture Research**, Bartlesville, v. 1, n. 3, p. 1-9, 2014.

PAULETTO, E. A. *et al.* Determinação da condutividade hidráulica de solos a partir da curva de retenção de água. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 12, n. 1, p. 89-195, 1988.

PIRES, J. L. F.; SOPRANO, E.; CASSOL, B. Adaptações morfofisiológicas da soja em solo inundado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 37, n. 1, p. 41-50, 2002.

POCIECHA, E.; KOSCIELNIAK, J.; FILEK, W. Effects of root flooding and stage of development on the growth and photosynthesis of field bean (*Vicia faba* L. minor). **Acta Physiologiae Plantarum**, Warszawa, v. 30, n. 4, p. 529-535, 2008.

POPP, M. P.; DILLON, C. R.; KEISLING, T. C. Economic and weather influences on soybean planting strategies on heavy soils. **Agricultural Systems**, Barking, v. 76, n. 3, p. 969-984, 2003.

PHUKAN, U. J. *et al.* Regulation of *Apetala2* / ethylene response factors in plants. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 8, [art.] 150, [p. 1-18], 2017.

RAFALSKI, A. Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 5, n. 2, p. 94-100, 2002.

RASHEED, A. *et al.* Development and validation of KASP assays for functional genes underpinning key economic traits in wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 129, n. 10, p. 1843-1860, 2016.

RAVELOMBOLA, W. S. *et al.* Genome-wide association study and genomic selection for soybean chlorophyll content associated with soybean cyst nematode tolerance. **BMC Genomics**, London, v. 20, [art.] 904, [p. 1-18], 2019.

RHINE, M. D. *et al.* Yield and nutritional responses to waterlogging of soybean cultivars. **Irrigation Science**, Heidelberg, v. 28, n. 2, p. 135-142, 2010.

RIZHSKY, L. *et al.* When defense pathways collide: the response of *Arabidopsis* to a combination of drought and heat stress. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 134, n. 4, p. 1683-1696, 2004.

ROUSE, J. W. Jr. *et al.* Monitoring vegetation systems in the great plains with ERTS. *In: EARTH RESOURCES TECHNOLOGY SATELLITE-1 SYMPOSIUM*, 3., 1973, Washington, DC. [**Proceedings of the ...**]. Washington, DC: NASA, 1973. v. 1, sect. A, paper A20, p. 309-317.

SABAGH, A. E. L. *et al.* Sustainable soybean production and abiotic stress management in saline environments: a critical review. **Australian Journal of Crop Science**, Brisbane, v. 13, n. 2, p. 228-236, 2019.

SCHÖFFEL, E. *et al.* Hidrical excess on yield components in soybeans. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 1, p. 7-12, 2001.

SARTORI, G. M. S. *et al.* Rendimento de grãos de soja em função de sistemas de plantio e irrigação por superfície em Planossolos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 50, n. 12, p. 1139-1149, 2015.

SASIDHARAN, R.; VOESENEK, L. A. C. J. Ethylene-mediated acclimations to flooding. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 169, n. 1, p. 3-12, 2015.

SAYAMA, T. *et al.* QTL analysis of seed-flooding tolerance in soybean (*Glycine max* [L.] Merr.). **Plant Science**, Limerick, v. 176, n. 4, p. 514-521, 2009.

SCHMUTZ, J. *et al.* Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. **Nature**, London, n. 463, v. 7278, p. 178-183, 2010.

SEDIYAMA, T. *et al.* **Cultura da soja**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1985.

SEDIYAMA, T.; TEIXEIRA, R. C.; REIS, M. S. Melhoramento da Soja. *In: BORÉM, A. (ed.). Melhoramento de espécies cultivadas*. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2005. p. 553-603.

- SHANNON, J. W. *et al.* Breeding soybeans for improved tolerance to flooding. *In: SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE*, 30., 2005, Chicago. [**Proceedings of the ...**]. Alexandria, VA: American Seed Trade Association, 2005.
- STEELE, K. A. *et al.* Accelerating public sector rice breeding with high-density KASP markers derived from whole genome sequencing of indica rice. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 38, n. 4, [art.] 38, [p. 1-13], 2018.
- SHENDURE, J.; HANLEE, J. I. Next-generation DNA sequencing. **Nature Biotechnology**, New York, v. 26, n. 10, p. 1135-1145, 2008.
- SHIMAMURA, S. *et al.* Stem hypertrophic lenticels and secondary aerenchima enable oxygen transport to roots of soybean in flooded soil. **Annals of Botany**, Oxford, v. 106, n. 2, p. 277-284, 2010.
- STRECK, E. V. *et al.* **Solos do Rio Grande do Sul**. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS; EMATER / RS, 2008.
- TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- THOMAS, A. L.; PIRES, J. L. F.; MENEZES, V. G. Rendimento de grãos de cultivares de soja em solo de várzea. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 6, n. 1, p. 107-112, 2000.
- TOUGOU, M. *et al.* Responses to flooding stress in soybean seedlings with the alcohol dehydrogenase transgene. **Plant Biotechnology**, Oxford, v. 29, n. 3, p. 301-305, 2012.
- VALLIYODAN, B.; DAN, Q.; PATIL, G. Landscape of genomic diversity and trait discovery in soybean. **Scientific Reports**, London, v. 6, [art.] 23598, [p. 1-10], 2016.
- VAN HOEWYK, D. *et al.* Chloroplast iron-sulfur cluster protein maturation requires the essential cysteine desulfurase cpNifS. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, DC, v. 104, n. 13, p. 5686-5691, 2007.
- VANTOAI, T. T. *et al.* Identification of a QTL associated with tolerance of soybean to soil waterlogging. **Crop Science**, Madison, v. 41, n. 4, p. 1247-1252, 2001.
- VANTOAI, T. T. *et al.* Flooding tolerance of soybean [*Glycine max*(L.) Merr.] germplasm from Southeast Asia under field and screen-house environments. **The Open Agriculture Journal**, Sharjah, v. 4, p. 38-46, 2010.
- VAN VEEN, H. *et al.* Group VII ethylene response factor diversification and regulation in four species from flood-prone environments. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 37, n. 10, p. 2421-2432, 2014.

- VAN VEEN, H. *et al.* Transcriptomes of eight *Arabidopsis thaliana* accessions reveal core conserved, genotype- and organ-specific responses to flooding stress. **Plant Physiology**, Limerick, v. 172, n. 2, p. 668-689, 2016.
- VARTAPETIAN, B.; JACKSON, M. Plant adaptation to anaerobic stress. **Annals of Botany**, Oxford, v. 79, p. 3-20, 1997. Supl. 1.
- VERMA, V.; RAVINDRAM, P.; KUMAR, P. P. Plant hormone mediated regulation os stress responses. **BMC Plant Biology**, London, v. 16, [art.] 86, [p. 1-10], 2016.
- VIDAL, R. O. *et al.* Identification of SNPs in RNA-seq data of two cultivars of *Glycine max* (soybean) differing in drought resistance. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 35, p. 331-334, 2012. Supl. 1.
- VOESENEK, L. A. C. J.; BAILEY-SERRES, J. Flood adaptive traits and processes: an overview. **New Phytologist**, London, v. 206, n. 1, p. 57-73, 2015.
- VRIEZEN, W. H. *et al.* 1- aminocyclopropane-1- carboxylate oxidase activity limits ethylene biosynthesis in *Rumex palustris* during submergence. **Plant Physiology**, Limerick, v. 121, n. 1, p. 189-196, 1999.
- WANG, W. X. *et al.* Biotechnology of plant osmotic stress tolerance: physiological and molecular considerations. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 560, p. 285-292, 2001.
- WANG, W.; VINOCUR, B.; ALTMAN, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. **Planta**, Berlin, v. 218, n. 1, p. 1-14, 2003.
- WANG, F. *et al.* Inheritance and QTL analysis of submergence tolerance at seedling stage in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. **Acta Agronomica Sinica**, Beijing, v. 34, n. 2, p. 748-753, 2008.
- WANG, X.; KOMATSU, S. Gel-free/label-free proteomic analysis of endoplasmic reticulum proteins in soybean root tips under flooding and drought stresses. **Journal of Proteome Research**, Washington, DC, v. 15, n. 7, p. 2211-2227, 2016.
- WU, Y. Y. *et al.* Development and evaluation of near-isogenic lines with different blast resistance alleles at the *Piz* locus in *japonica* rice from the lower region of the Yangtze River China. **Plant Disease**, St. Paul, v. 101, n. 7, p. 1283-1291, 2017a.
- WU, C. *et al.* Evaluation and development of flood-tolerant soybean cultivars. **Plant Breeding**, Berlin, v. 136, n. 6. p. 916-923, 2017b.
- WU, C. *et al.* Genome-wide association mapping of flooding tolerance in soybean. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 40, [art.] 4, [p. 1-14], 2020.

- XU, Z. S. *et al.* Functions and application of the AP2/ERF transcription factor family in crop improvement. **Journal of Integrative Plant Biology**, Carlton South, v. 53, n. 7, p. 570-585, 2011.
- XUE, J.; SU, B. Significant remote sensing vegetation indices: a review of developments and applications. **Journal of Sensors**, New York, v. 2017, [art.] ID 1353691, [p. 1-17], 2017.
- YANG, C. Y. *et al.* The AP2/ERF transcription factor AtERF73/HRE1 modulates ethylene responses during hypoxia in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, Limerick, v. 156, n. 1, p. 202-212, 2011.
- YANG, Y. *et al.* GWAS identifies two novel loci for photosynthetic traits related to phosphorus efficiency in soybean. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 40, n. 3, p. 705-716, 2020.
- YU, Z. *et al.* Identification of QTN and candidate gene for seed-flooding tolerance in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] using Genome-Wide Association Study (GWAS). **Genes**, Basel, v. 10, n. 12, [art.] 957, [p. 1-23], 2019.
- YUAN, J. *et al.* Introduction of high throughput and cost effective SNP genotyping platforms in soybean. **Plant Genetics, Genomics, and Biotechnology**, Fayetteville, v. 2, n. 1, p. 90-94, 2014.
- ZEMOLIN, C. R. **S-Metolachlor**: red rice control and dissipation in lowland. 2014. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.
- ZHANG, C. *et al.* Loci and candidate genes in soybean that confer resistance to *Fusarium graminearum*. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 132, n. 2, p. 431-441, 2019.
- ZHAO, Y. *et al.* A high-throughput SNP discovery strategy for RNA-seq data. **BMC Genomics**, London, v. 20, [art.] 160, [p. 1-10], 2019.
- ZHENG, L. *et al.* Mechanism for the desulfurization of L-cysteine catalyzed by the nifS gene product. **Biochemistry**, Washington, DC, v. 33, n. 15, p. 4714-4720, 1994.
- ZHOU J. *et al.* Qualification of soybean responses to flooding stress using UAV-Based imagery and deep learning. **Plant Phenomics**. Washington, DC, v. 2021, [art.] 9892570, [p. 1-13], 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.34133/2021/9892570>. Acesso em: 14 jun. 2020.
- ZHU, Y. L. *et al.* Single-nucleotide polymorphisms in soybean. **Genetics**, Austin, v. 163, n. 3, p. 1123-1134, 2003.