

Genética e Melhoramento de Plantas e Animais

Magnólia de Araújo Campos
Rafael Trindade Maia
(Organizadores)

 **Atena**
Editora

Ano 2019



Genética e Melhoramento de Plantas e Animais

Magnólia de Araújo Campos
Rafael Trindade Maia
(Organizadores)

 **Atena**
Editora

Ano 2019



2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Geraldo Alves
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Faria – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
G328	Genética e melhoramento de plantas e animais [recurso eletrônico] / Organizadores Magnólia de Araújo Campos, Rafael Trindade Maia. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web. Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-719-2 DOI 10.22533/at.ed.192191710 1. Animais – Melhoramento genético. 2. Genética. 3. Plantas – Melhoramento genético. I. Campos, Magnólia de Araújo. II. Maia, Rafael Trindade. CDD 575
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

A área de melhoramento genético é um sub-ramo da genética que visa identificar, aperfeiçoar, selecionar, preservar e utilizar características de interesse produtivo e comercial em plantas e animais. Selecionar genótipos e fenótipos de interesse nos variados organismos vem sendo feito desde o início da agricultura e da pecuária, nos primórdios da civilização, através de seleção artificial.

Atualmente, a área de melhoramento genético conta com inúmeras ferramentas para a seleção de características desejáveis; como marcadores morfológicos e moleculares, criopreservação, transgenia, cruzamentos e construção de germoplasmas.

A obra "**Genética e melhoramento de plantas e animais**" é composta de uma criteriosa seleção de trabalhos científicos e de revisões de literatura organizados em 10 capítulos distintos, elaborados por pesquisadores de diversas instituições que apresentam temas diversificados e relevantes. Este *e-Book* foi cuidadosamente editado para acadêmicos e estudantes de todos os níveis (graduação e pós-graduação) que apresentem interesse nesta área, no qual encontrarão informação e resultados de pesquisas de ponta.

É inegável a crescente demanda de estudos e pesquisas direcionadas ao melhoramento das espécies, especialmente em um país tido como uma das maiores potências agrícolas e pecuárias do mundo. O futuro do melhoramento genético é fascinante e extremamente promissor no Brasil e no mundo, e certamente será uma das forças motrizes da produção animal e vegetal e do desenvolvimento científico, tecnológico e humano.

Magnólia de Araújo Campos
Rafael Trindade Maia

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
AVALIAÇÃO DO ÍNDICE MEIÓTICO, VIABILIDADE E CARACTERIZAÇÃO POLÍNICA DE <i>Theobroma grandiflorum</i> (WILLD. EX SPRENG.) K. SCHUM	
Uéliton Alves de Oliveira Alex Souza Rodrigues Elisa dos Santos Cardoso Kelli Évelin Müller Zortéa Edimilson Leonardo Ferreira Talles de Oliveira Santos Ana Aparecida Bandini Rossi	
DOI 10.22533/at.ed.1921917101	
CAPÍTULO 2	12
CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, CITOGENÉTICA E MOLECULAR DE TRIGO COMO SUBSÍDIO AO MELHORAMENTO GENÉTICO, REGISTRO E PROTEÇÃO DE CULTIVARES	
Gabrieli Scariot Sandra Patussi Brammer Pedro Luiz Scheeren Ricardo Lima de Castro Simone Meredith Scheffer-Basso	
DOI 10.22533/at.ed.1921917102	
CAPÍTULO 3	23
CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA EM ESPIGAS DE POPULAÇÕES DE MILHO CRIOULO CULTIVADAS NA REGIÃO NORTE DO RIO GRANDE DO SUL	
Ariel Rizzardo Bianca Oliveira Machado Cristina Slaviero Marcos Gatti Slaviero Karina da Silva Noryam Bervian Bispo	
DOI 10.22533/at.ed.1921917103	
CAPÍTULO 4	30
VARIABILIDADE DOS GENÓTIPOS DE MILHO DA ZONA DE TRANSIÇÃO AMAZÔNIA-CERRADO	
Lucas Carneiro Maciel Weder Ferreira dos Santos Rafael Marcelino da Silva Layanni Ferreira Sodré Laura Carneiro Silva Zildiney Dantas da Silva Jefferson da Silva Pereira Fernando Assis de Assunção Benício Lourenço Duarte Júnior	
DOI 10.22533/at.ed.1921917104	

CAPÍTULO 5 39

DESEMPENHO AGRONÔMICO E DIVERGÊNCIA GENÉTICA EM MILHO NO ECÓTONO CERRADO-AMAZÔNIA

Rafael Marcelino da Silva
Weder Ferreira dos Santos
Layanni Ferreira Sodré
Adriano Silveira Barbosa
Laina Pires Rosa
Lucas Carneiro Maciel
Igor Moraes dos Reis
Eduardo Tranqueira da Silva
Matheus Rodrigues de Andrade

DOI 10.22533/at.ed.1921917105

CAPÍTULO 6 50

SELEÇÃO DE HÍBRIDOS DE MILHO SUMETIDOS A DEFICIT HÍDRICO NO ESTÁGIO V4

Luiz Augusto Salles das Neves
Kelen Haygert Lencina
Raquel Stefanello

DOI 10.22533/at.ed.1921917106

CAPÍTULO 7 59

BENEFÍCIOS DO SILÍCIO COMO ATENUADOR DE ESTRESSES NAS PLANTAS

Cândido Ferreira de Oliveira Neto
Glauco André dos Santos Nogueira
Luma Castro de Souza
Luciana Ingrid Souza de Sousa
Andressa Pinheiro de Paiva

DOI 10.22533/at.ed.1921917107

CAPÍTULO 8 71

MINIRREVISÃO: CRIOPRESERVAÇÃO DE GAMETAS

Renan Rhonalty Rocha
Maria Vitória Laurindo
Antonio Erivelton Passos Fontenele
Camilla Rodrigues Pinho
Sílvia Helena Tomás
Bárbara Mônica Lopes e Silva
Antônio José Rocha

DOI 10.22533/at.ed.1921917108

CAPÍTULO 9 78

BIOTECNOLOGIA COMO FERRAMENTA PARA O CONHECIMENTO E CONSERVAÇÃO DA FAUNA E FLORA AMAZÔNICA

Marcelo Derzi Vidal
Elba Pereira Chaves
Vilena Aparecida Ribeiro Silva

DOI 10.22533/at.ed.1921917109

CAPÍTULO 10	88
--------------------------	-----------

DIVERSIDADE GENÉTICA DE SEIS RAÇAS CAPRINAS BRASILEIRAS

Bruna Lima Barbosa
Vanessa dos Santos Neri
Abigail Araújo de Carvalho
Débora Araújo de Carvalho
Eliene Pereira de Oliveira
Artur Oliveira Rocha
José Lindenberg Rocha Sarmiento
Fábio Barros Britto
Max Brandão de Oliveira
Soraya Sara Viana Castro
Maria Ivamara Soares Macedo

DOI 10.22533/at.ed.19219171010

SOBRE OS ORGANIZADORES	97
-------------------------------------	-----------

ÍNDICE REMISSIVO	98
-------------------------------	-----------

AVALIAÇÃO DO ÍNDICE MEIÓTICO, VIABILIDADE E CARACTERIZAÇÃO POLÍNICA DE *Theobroma grandiflorum* (WILLD. EX SPRENG.) K. SCHUM

Uéilton Alves de Oliveira

Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal -
LMGV

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy
Ribeiro - UENF

Campos dos Goytacazes - RJ

Alex Souza Rodrigues

Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal -
LMGV

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy
Ribeiro - UENF

Campos dos Goytacazes - RJ

Elisa dos Santos Cardoso

Laboratório de Genética Vegetal e Biologia
Molecular

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos
Alberto Reyes Maldonado – UNEMAT, Alta
Floresta – MT

Kelli Évelin Müller Zortéa

Laboratório de Genética Vegetal e Biologia
Molecular

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos
Alberto Reyes Maldonado – UNEMAT, Alta
Floresta – MT

Edimilson Leonardo Ferreira

Laboratório de Genética Vegetal e Biologia
Molecular

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos
Alberto Reyes Maldonado – UNEMAT, Alta
Floresta – MT

Talles de Oliveira Santos

Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal -

LMGV

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy
Ribeiro - UENF

Campos dos Goytacazes - RJ

Ana Aparecida Bandini Rossi

Laboratório de Genética Vegetal e Biologia
Molecular

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos
Alberto Reyes Maldonado – UNEMAT, Alta
Floresta – MT

RESUMO: *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K. Schum (cupuaçuzeiro) é uma espécie frutífera nativa da Amazônia de grande importância para agricultura familiar no norte do Brasil, especialmente pela comercialização da polpa e semente de seus frutos. Objetivou-se, com esta pesquisa, avaliar os aspectos reprodutivos de *T. grandiflorum* por meio do índice meiótico, da citoquímica, viabilidade e morfologia polínica. Foram coletados botões florais em pré-antese de cinco indivíduos e fixados em solução de álcool absoluto: ácido acético (3:1) por 24 horas e armazenados em álcool 70% até posterior uso. O índice meiótico (IM), foi estimado pela contagem de produtos pós-meióticos. A análise da viabilidade polínica foi realizada pelo método colorimétrico, utilizando o corante reativo de Alexander. Para a citoquímica, foram utilizados os corantes sudan IV e lugol 2%, que coram lipídios e

amido, respectivamente. Para a caracterização polínica utilizou-se o método de acetólise sendo as avaliações realizadas em 25 grãos de pólen fotografados em vista polar e equatorial. Os resultados indicam que a espécie possui índice meiótico alto, com média de 96,45%. A porcentagem de viabilidade polínica foi superior a 95% para os cinco indivíduos avaliados. O grão de pólen de *T. grandiflorum* foi caracterizado como pequeno, oblato esferoidal, 3-colporados com exina reticulada. *T. grandiflorum* apresenta regularidade meiótica, refletida na alta viabilidade polínica e apresenta amido como material de reserva nos grãos de pólen. Esses resultados serão úteis no estabelecimento e manutenção de cultivos comerciais e programas de melhoramento da espécie, bem como auxiliarão futuros estudos palinológicos.

PALAVRAS-CHAVE: Aspectos reprodutivos; Caracterização polínica; Cupuaçuzeiro.

EVALUATION OF THE MEIOTIC INDEX, FEASIBILITY AND POLLEN CHARACTERIZATION OF *Theobroma grandiflorum* (WILLD. EX SPRENG.) K. SCHUM

ABSTRACT: *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K. Schum (cupuaçuzeiro) is a native Amazonian fruit species of great importance for family farming in northern Brazil, especially for the commercialization of the pulp and seed of its fruits. The objective of this research was to evaluate the reproductive aspects of *T. grandiflorum* using the meiotic index, cytochemistry, viability and pollen morphology. Pre-anthesis flower buds were collected from five individuals and fixed in absolute alcohol: acetic acid (3: 1) solution for 24 hours and stored in 70% alcohol until further use. The meiotic index (MI) was estimated by counting post-meiotic products. Pollen viability analysis was performed by colorimetric method using Alexander reactive dye. For cytochemistry, sudan IV and lugol 2% dyes were used, which stain lipids and starch, respectively. For pollen characterization the acetolysis method was used and the evaluations were performed on 25 pollen grains photographed in polar and equatorial view. The results indicate that the species has a high meiotic index, with an average of 96.45%. The pollen viability percentage was higher than 95% for the five evaluated individuals. The pollen grain of *T. grandiflorum* was characterized as small, spheroidal oblate, 3-colporated with reticulated exine. *T. grandiflorum* presents meiotic regularity, reflected in the high pollen viability and presents starch as a reserve material in pollen grains. These results will be useful in establishing and maintaining commercial crops and breeding programs, as well as assisting future palynological studies.

KEYWORDS: Reproductive aspects; Pollen characterization; Cupuaçuzeiro.

1 | INTRODUÇÃO

A família Malvaceae, apresenta uma distribuição predominantemente pantropical e abrange cerca de 243 gêneros e 4.225 espécies (MOBOT, 2019). Nesta família, encontra-se o gênero *Theobroma*, tipicamente neotropical, representado no Brasil por 13 espécies, das quais cinco são endêmicas (FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO, 2019).

No gênero *Theobroma* destaca-se a espécie *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K. Schum. (cupuaçuzeiro), uma planta frutífera nativa da Amazônia e de grande importância para a agricultura familiar no norte do Brasil. Sua importância está relacionada à comercialização de seus frutos para fabricação de doces, sucos, geleias, sorvetes, licores, compotas, e de suas sementes, para a obtenção de chocolate de excelente qualidade, conhecido como cupulate (ALVES et al., 2007). A contínua expansão do comércio de cupuaçu tem gerado uma demanda crescente pelo produto, garantindo ao produtor a segurança de venda da produção agrícola dessa espécie (SILVA et al., 2016).

Em meio às frutas tropicais nativas da Amazônia, o cupuaçu é aquela que reúne as melhores condições de aproveitamento industrial (CHAAR, 1980), porém, em geral, um dos maiores problemas encontrados nas plantações comerciais de cupuaçu é a baixa produtividade (ALVES et al., 2008), devido ao material de plantio empregado não ser selecionado e apresentar susceptibilidade a doenças como, por exemplo, a vassoura da bruxa, causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa* (THOMAZELLA et al., 2012; NETO et al., 2015).

A baixa produtividade dessa espécie é fortemente influenciada pela redução da fertilidade devido a problemas de polinização e autocompatibilidade. A fraca conversão de flores em frutos é atribuída à presença de barreiras naturais que afetam o número de flores polinizadas (VENTURIERI, 2011).

Portanto, estudos sobre índice meiótico, viabilidade, citoquímica e morfologia dos grãos de pólen podem fornecer informações a respeito da propagação da espécie, auxiliando na escolha dos grãos de pólen viáveis, o que influencia diretamente o sucesso dos cruzamentos (CABRAL et al., 2013) e a seleção de genótipos para programas de melhoramento (HISTER et al., 2016), na conservação dos seus recursos genéticos e na elucidação de características que propiciem um melhor entendimento taxonômico e biosistemático (OLIVEIRA et al., 2018).

Diante do exposto, objetivou-se, com esta pesquisa, avaliar aspectos reprodutivos de *T. grandiflorum* por meio do índice meiótico, da citoquímica, viabilidade e morfologia polínica.

2 | METODOLOGIA

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular do Centro de Pesquisa e Tecnologia da Amazônia Meridional (CEPTAM) na Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Universitário de Alta Floresta, situado no norte do estado de Mato Grosso. Em agosto de 2017, flores e botões florais em pré-antese foram coletados de cinco indivíduos de *T. grandiflorum* (Figura 1A-C) localizados no perímetro urbano do município de Alta Floresta - MT. O material foi fixado em solução de álcool absoluto: ácido acético (3:1) por 24 horas, em temperatura ambiente, e logo após transferidos para álcool 70% e mantidos a 4°C até

uso posterior.

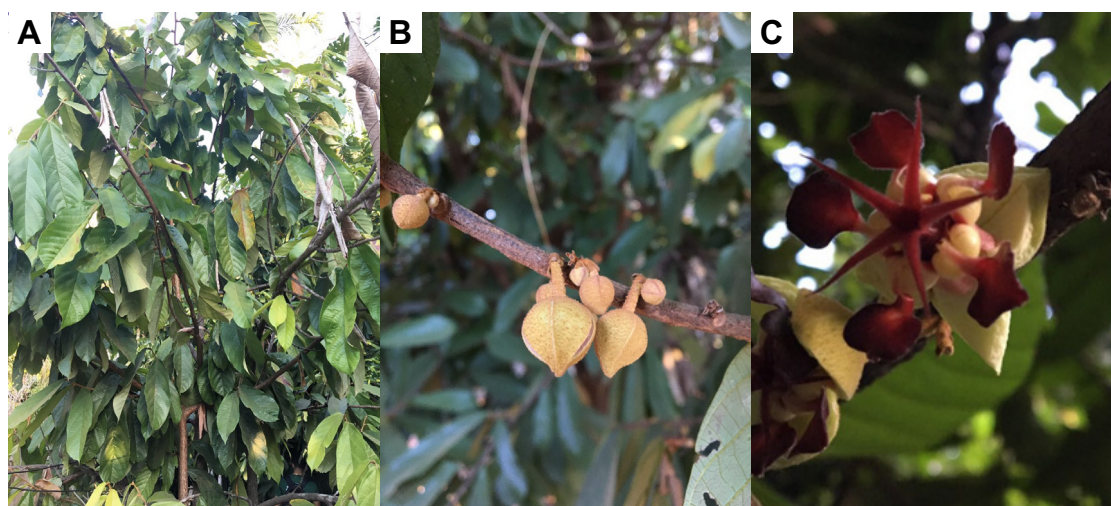


Figura 1: *Theobroma grandiflorum*. A: Indivíduo adulto; B: Botões florais em pré-antese; C: Antese.

2.1 Índice meiótico

Para a estimativa do índice meiótico (IM) foi utilizado um mix com botões florais em pré-antese (Figura 1B) de todos os indivíduos. Para observação das células em pós-meiose foram preparadas oito lâminas utilizando a técnica de esmagamento da antera sobre a lâmina (GUERRA; SOUZA, 2000) e o material foi corado com orceina acética 2%. O tamanho dos botões florais foi mensurado em (mm), com auxílio de paquímetro digital de precisão Mitutoyo, a fim de correlacionar o tamanho dos mesmos com a fase de desenvolvimento do gameta masculino.

Sob microscopia óptica, com aumento de 400x, foram contabilizadas 2000 células, 250 por lâmina, sendo que as tétrades com células de mesmo tamanho foram consideradas produtos pós-meióticos normais e mônades, díades, tríades e políades foram consideradas produtos pós-meióticos anormais. O índice meiótico foi estimado pela fórmula proposta por Love (1949) (1):

$$IM (\%) = \left(\frac{T}{N} \right) \times 100 \quad (1)$$

onde T é o número de tétrades normais e N o número total de produtos pós-meióticos contabilizados.

2.2 Viabilidade polínica e citoquímica

Para estimar a viabilidade polínica foi utilizado reativo de Alexander e botões florais em pré-antese de cinco indivíduos. Foram confeccionadas oito lâminas por indivíduo, sendo contabilizados, sob microscopia óptica em aumento de 400x, 250 grãos de pólen por lâmina, perfazendo um total de 2000 por indivíduo. As lâminas foram preparadas utilizando a técnica descrita por GUERRA e SOUZA (2000) e a

observação foi realizada pelo método de varredura. A viabilidade polínica foi estimada por meio da porcentagem de grãos de pólen viáveis obtidos pela equação (2):

$$\text{Viabilidade do pólen (\%)} = \left(\frac{n^{\circ} \text{ de grãos corados}}{n^{\circ} \text{ de grãos contados}} \right) \times 100 \quad (2)$$

Os resultados da viabilidade polínica tiveram sua significância determinada por meio do teste F e as médias foram comparadas pelo teste Tukey, em nível de 5% de probabilidade, para comparação entre os indivíduos. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa Genes (CRUZ et al., 2013).

Para avaliar a presença de substâncias de reserva dos grãos de pólen, foram empregadas técnicas citoquímicas de acordo com Baker e Baker (1979), com o corante lugol 2% utilizado para identificação de amido e o sudan IV para identificação de lipídios, sendo os grãos de pólen classificados como positivo ou negativo para estas substâncias. Foi utilizado um mix com botões florais, em pré-antese, dos cinco indivíduos, sendo contabilizados, sob microscopia óptica em aumento de 400x, 250 grãos de pólen por lâmina, perfazendo um total de 2000 para cada corante.

2.3 Morfologia dos grãos de pólen

Para analisar morfologia polínica, as anteras dos botões florais foram submetidas ao método de acetólise (ERDTMAN, 1943) com algumas modificações: aumento da temperatura do banho-maria de 70 a 80 °C para 100 °C por cinco minutos e aumento do tempo de exposição à mistura de glicerina e água destilada de dez minutos para duas horas, sem a retirada da solução antes do preparo das lâminas.

As lâminas foram preparadas e fotografadas no mesmo dia, para evitar o intumescimento dos grãos de pólen. As lâminas foram observadas em microscópio óptico binocular Biocam com magnitude de 400x e 1000x. As imagens foram obtidas por câmera CMOS 1.3 acoplada ao microscópio e com auxílio do sistema de captura de imagens Tsview 7. Foram mensurados o diâmetro polar e equatorial em vista equatorial (grão de pólen perpendicular à vista polar), o diâmetro equatorial em vista polar (grão de pólen com a área polar voltada para o observador) dos grãos de pólen, a espessura da exina e do apocolpo. As mensurações foram realizadas em 25 grãos de pólen tomados ao acaso com auxílio do programa Anati Quanti 2[®] UFV (AGUIAR et al., 2007). Os cálculos de média aritmética (\bar{x}), o desvio padrão da média (s_x), o coeficiente de variabilidade (V) e o intervalo de confiança (IC) a 95% foram realizadas através do programa Genes (CRUZ, 2013).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os produtos pós-meióticos utilizados para o cálculo do IM foram encontrados nos botões florais que apresentaram tamanhos entre 4,51 e 5,73 mm, com uma média de 5,39 mm. A porcentagem média do IM foi de 96,45% (Tabela 1). De acordo

com Love (1949), plantas com IM acima de 90% são consideradas citologicamente estáveis e satisfatórias para programas de melhoramento. Pode-se inferir, portanto, que a espécie avaliada possui produção normal de gametas masculinos, embora também tenham sido observados produtos pós-meióticos anormais, mônade e tríade (Figura 2).

Lâminas	CBF (mm)	Mônade	Tríade	Tétrade	IM %
1	4,51	4	10	236	94,4
2	5,42	1	12	237	94,8
3	5,64	5	3	242	96,8
4	5,58	1	4	245	98,0
5	5,30	-	8	242	96,8
6	5,41	-	5	245	98,0
7	5,50	-	10	240	96,0
8	5,73	-	8	242	96,8
Médias	5,39	1,37	7,5	241,12	96,45

Tabela1. Produtos pós-meióticos e Índice Meiótico (IM) de cinco indivíduos de *Theobroma grandiflorum*.

CBF (mm): Comprimento do botão floral em milímetros.

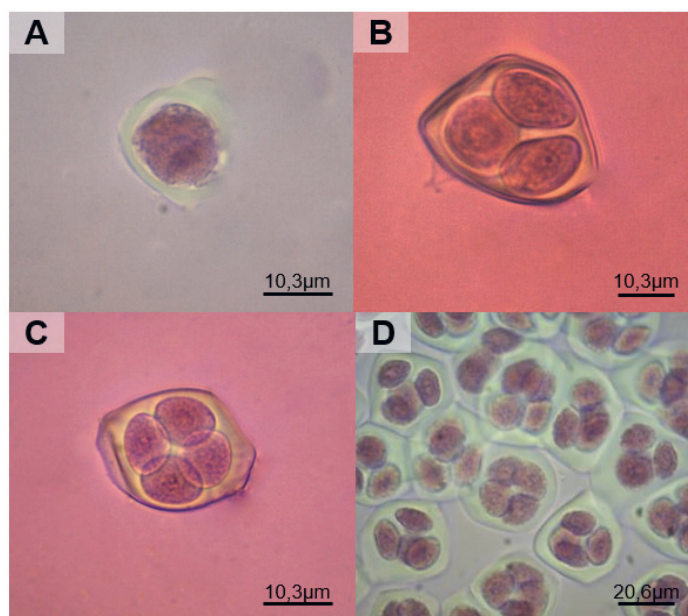


Figura 2. Produtos pós-meióticos de *Theobroma grandiflorum*. A: Mônade; B: Tríade; C: Tétrade e D: Campo com um conjunto de tétrades.

Os botões utilizados para preparação das lâminas de viabilidade polínica e citoquímica mediam entre 9,69 e 15,68 mm, com uma média de 12,27 mm. Os corantes utilizados para avaliação da viabilidade e citoquímica dos grãos de pólen foram eficazes para distinção dos polens viáveis e inviáveis (Figura 3A) e para a

determinação do conteúdo de reserva (Figura 3B e 3C).

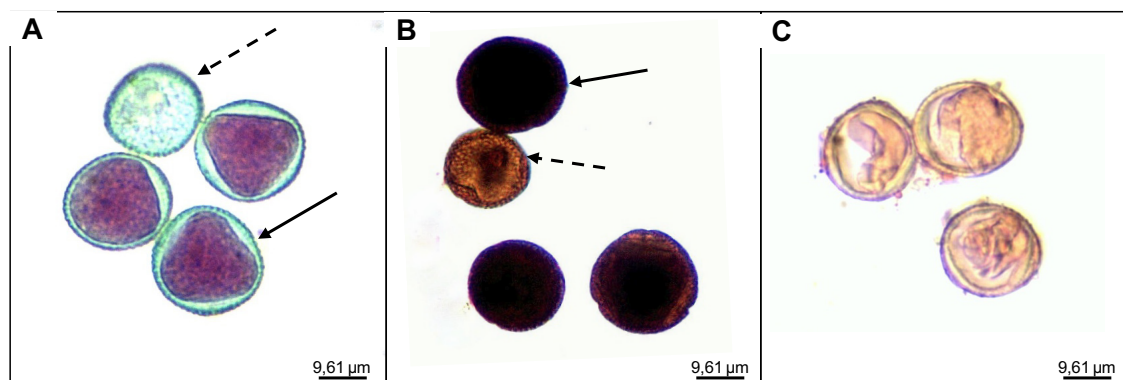


Figura 3. Grãos de pólen de *Theobroma grandiflorum*. A: Reativo de Alexander (seta contínua: polens viáveis; seta pontilhada: polens inviáveis); B: Lugol (seta contínua: amido-positivo e seta pontilhada: amido-negativo) e C: Sudan IV (lipídio-negativo).

Para o reativo de Alexander foram considerados grãos de pólen viáveis aqueles sem deformidades e com interior corado de púrpura e a parede de verde, enquanto grãos de pólen inviáveis apresentavam aspecto vazio, somente com coloração esverdeada (Figura 3A). Análises utilizando o reativo de Alexander para estimativa da viabilidade polínica fornecem dados acurados, pois se obtém uma coloração diferencial dos polens viáveis e não viáveis, devido à utilização simultânea de verde malaquita e fucsina ácida, os quais apresentam dupla coloração. O verde malaquita tem afinidade pela celulose presente na parede celular, corando-a de verde, enquanto que o protoplasma é corado pela fucsina ácida, de modo que, por não apresentarem protoplasma, os grãos de pólen abortados coram-se de verde (ALEXANDER, 1980).

A taxa de viabilidade polínica para a espécie apresentou média de 98,23%, sem diferenças estatísticas entre os indivíduos (Tabela 2).

Indivíduos	Reativo de Alexander
AF01	97,45
AF02	98,10
AF03	98,45
AF04	98,13
AF05	99,00
CV%	1,61

Tabela 2. Porcentagem da viabilidade dos grãos de pólen de *Theobroma grandiflorum*.

Segundo Souza et al. (2002), valores de viabilidade polínica acima de 70% são considerados altos, de modo que os resultados obtidos nesse trabalho, indicam que os indivíduos estudados apresentam alta quantidade de polens viáveis. Resultados semelhantes foram encontrados em estudos com espécies do mesmo gênero, *Theobroma cacao* e *Theobroma subincanum*, realizados por Cabral et al. (2013) e Arenas-de-Souza et al. (2016), respectivamente, onde a viabilidade foi superior a 90%.

Os resultados da viabilidade polínica são concordantes com os resultados do índice meiótico, demonstrando que os indivíduos avaliados possuem regularidade meiótica, expressa na alta porcentagem de grãos de pólen viáveis. Esse resultado é um indicativo de que a formação dos gametas não influencia na baixa a produtividade da espécie, descrita por alguns autores (FALCÃO E LLERAS, 1983; VENTURIERI, 2011).

As análises colorimétricas realizadas com os corantes lugol e sudan IV revelaram que os grãos de pólen de *T. grandiflorum* apresentam amido como substância de reserva (Figura 3B) e que o lipídio está ausente, uma vez que os grãos de pólen submetidos ao sudan IV não coraram (Figura 3C).

A presença de amido no pólen é uma adaptação para evitar a ação de insetos não polinizadores que se alimentam de pólen, além de ser importante na manutenção viabilidade do grão de pólen, pois o amido é total ou parcialmente convertido em glicose, frutose, sacarose e pectinas que aumentam a sua resistência em ambientes hostis, bem como auxiliam na germinação do tubo polínico (BAKER; BAKER, 1979; RODRÍGUEZ-GARCÍA et al., 2003; PACINI et al., 2006).

Os grãos de pólen de *T. grandiflorum* possuem área polar muito grande (abertura muito curta), são pequenos, apresentam formato oblato esferoidal (subesferoidal), são 3-colporados e apresentam exina reticulada (Tabela 3 e Figura 4).

Medidas	Mín. – Máx. (µm)	$x \pm sx$ (µm)	IC 95% (µm)	CV (%)
Diâmetro Equatorial (VE)	44,10 – 54,80	48,73 ± 2,87	47,46 – 49,88	5,87
Eixo Polar (VE)	34,27 – 50,15	43,96 ± 3,79	42,28 – 45,48	8,61
Razão P/E	0,75 – 0,96	0,90 ± 0,05	0,88 – 0,92	5,65
Diâmetro Equatorial (VP)	26,23 – 49,08	38,45 ± 4,76	36,34 – 40,36	12,39
Apocolpo	23,89 – 42,47	30,14 ± 4,22	28,27 – 31,83	14,00
I.A.P	0,70 – 1,43	0,79 ± 0,15	0,73 – 0,85	18,77
Exina	3,18 – 4,19	3,55 ± 0,26	3,44 – 3,65	7,25

Tabela 3. Medidas dos pólenes de *Theobroma grandiflorum* submetidos ao método de acetólise.

x = média; sx = desvio padrão da média; IC = intervalo de confiança; CV (%) = coeficiente de variação; VE = Vista Equatorial; VP = Vista Polar; P/E = Razão entre eixo polar sobre diâmetro equatorial; I.A.P.= Índice de área polar.

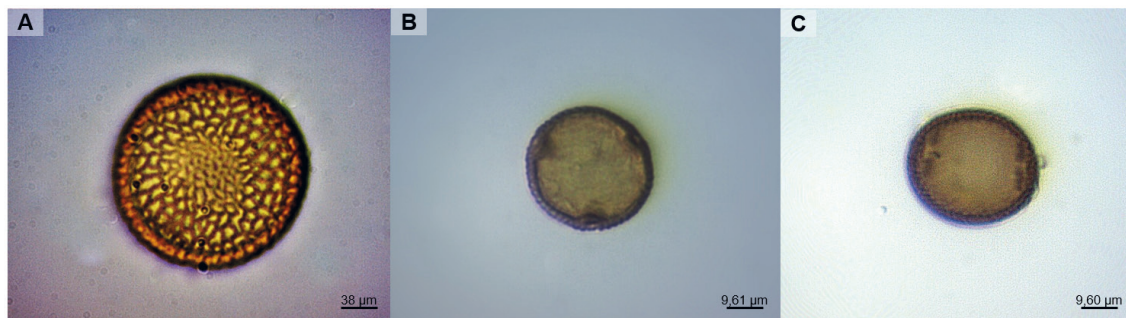


Figura 4. Morfologia do pólen de *Theobroma grandiflorum* A: Detalhe da exina reticulada (ornamentação); B: Vista polar com detalhe das aberturas dos colpos; C: Vista equatorial com detalhe dos colpos.

A caracterização dos grãos de pólen de *T. grandiflorum* obtidos neste estudo estão de acordo com estudo realizado por Saba (2007) com os grãos de pólen de outras duas espécies do gênero, *T. cacao* L. e *T. subincanum* Mart, caracterizando-os como pequenos, oblato-esferoidais a subprolatos e 3-colporados.

De acordo com Oliveira e Pierre (2018), algumas características morfológicas dos grãos de pólen estão associadas ao tipo de polinização. Nos indivíduos de *T. grandiflorum* avaliados, a ornamentação reticulada da exina pode suprir a falta de lipídios nos grãos de pólen, uma vez que a mesma também auxilia na aderência durante o transporte feito por polinizadores e do grão de pólen ao estigma.

4 | CONCLUSÃO

A espécie *T. grandiflorum* apresenta regularidade meiótica, confirmada pelo alto índice meiótico e alta viabilidade polínica. Os grãos de pólen apresentam amido como substância de reserva e são classificados como pequenos, 3-colporados com formato oblato esferoidal e exina reticulada.

As informações obtidas neste trabalho auxiliarão na identificação da espécie, principalmente em estudos que necessitem de informações morfológicas, tais como a paleobotânica, paleoecologia e taxonomia vegetal, sendo úteis também para implantação e manutenção de cultivos comerciais e programas de melhoramento que envolvam a espécie, pois facilitam a escolha de indivíduos adequados para cruzamentos.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, T. V.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; AZEVEDO, A. A.; FERREIRA, R. S. Anati quanti: software de análises quantitativas para estudos em anatomia vegetal. **Planta Daninha**, v.25, n.4, p.649-659. 2007.

ALEXANDER, M. P. A. Versatile stain for pollen fungi, yeast and bacterium. **Stain Technology**, v. 1, n. 5, p. 13-8. 1980.

- ARENAS-DE-SOUZA, M. D.; ROSSI, A. A. B.; VARELLA, T. L.; SILVEIRA, G. F. D.; SOUZA, S. A. Stigmatic receptivity and pollen viability of *Theobroma subincanum* Mart.: Fruit species from the amazon region. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, n. 4. 2016.
- ALVES, R. M.; ARTERO, A. S.; SEBBENN, A. M.; CLEMENT, C.; FIGUEIRA, A. High levels of genetic divergence and inbreeding in populations of cupuassu, *Theobroma grandiflorum*. **Tree Genetics & Genomes**, v. 3, n. 4, p. 289-298. 2007. DOI: 10.1007/s11295-006-0066-9.
- ALVES, R. M.; RESENDE, M. D. V. Genetic evaluation of individuals and progenies of *Theobroma grandiflorum* in the state of Pará and estimates of genetic parameters. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 3, p. 696-701, 2008. DOI: 10.1590/S0100-29452008000300023.
- BAKER, H. G.; BAKER. I. Starch in angiosperm pollen grains and its evolutionary significance. **American Journal of Botany**, v. 66, p. 591-600, 1979. DOI: 10.1002/j.1537-2197.1979.tb06262.x
- CABRAL, J. C.; ROSSI, A. A. B.; KLEIN, M. E.; VIEIRA, F. S.; GIUSTINA, L. D. Estimativa da viabilidade polínica em acessos de *Theobroma cacao* L. baseada em testes colorimétricos. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 2780-2788, 2013.
- CHAAR, J. M. **Composição do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) e conservação de seu néctar por meios físicos e químicos**. Rio de Janeiro, Tese Mestrado - Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, 1980, 78p.
- CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013. DOI: 10.4025/actasciagron.v35i3.21251.
- ERDTMAN, G. **An introduction to pollen analysis**. Waltham, CBC, 1943. 240p.
- FALCÃO, M. A.; LLERAS, E. Aspectos fenológicos, ecológicos e de produtividade do cupuaçu - *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum. **Acta Amazônica**, v. 13, p. 725-735. 1983. DOI: 10.1590/1809-439219831356725.
- FLORA DO BRASIL. Malvaceae. In: **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB156>>. Acesso em: 31 jul. 2019.
- GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos**: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto, SP: FUNPEC, 2002, 131p.
- HISTER, C. A. L.; TEDESCO, S. B. Estimativa da viabilidade polínica de araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine) através de distintos métodos de coloração. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 18, n. 1, p.135-141. 2016.
- LOVE, R. M. Estudos **citológicos preliminares de trigos rio-grandenses**. Porto Alegre: Secretaria do Estado dos Negócios da Agricultura, Indústria e Comércio, 1949. 23p.
- NETO, S. E. A.; FREDNBERG, N. T. N.; MINOSSO, S. C. C.; DHEIMY, D. S. N.; ROMEU, D. C. A. N. Condicionadores de substrato para produção orgânica de mudas de cupuaçu. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 4, p. 1083-1088, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-2945-207/14>.
- OLIVEIRA, L. B. P.; PIERRE, P. M. O. Índice meiótico e palinologia de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* DC-Myrtaceae). **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 17, n. 4, p. 481-490, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.5965/223811711732018481>.
- PACINI, E.; GUARNIERI, M.; NEPI, M. Pollen carbohydrates and water content during development, presentation, and dispersal: a short review. **Protoplasma**, v. 228, n. 1-3, p. 73, 2006.

RODRIGUEZ-RIANO, T.; DAFNI, A. A new procedure to assess pollen viability. **Sexual Plant Reproduction** v. 12, p. 241-244. 2000.

SABA, M. D. Morfologia polínica de Malvaceae: Implicações taxonômicas e filogenéticas. (2007) 203f. Tese de Doutorado. Tesis. Universidade Estadual de Feira de Santana. Bahia, 2007.

SILVA, B. M.; ROSSI, A. A. B.; DARDENGO, J. D. F. E.; ARAUJO, V. A. A. C.; ROSSI, F. S., OLIVEIRA, L. O.; CLARINDO, W. R. Diversidade genética estimada com marcadores entre sequências simples repetidas em cultivos comerciais de Cupuaçuzeiro. **Ciência Rural**, v. 46, n. 1, p. 108-113, 2016.

SOUZA, M. M.; PEREIRA, T. N. S.; MARTINS, E. R. Microsporogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *Flavicarpa* degener). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 6. p. 1209-1217, 2002.

STEVENS, P. F. (2001 onwards). **Angiosperm Phylogeny Website**. Version 12, July 2012 [and more or less continuously updated since. Disponível em: www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/. Acesso em: 31 jul. 2019.

THOMAZELLA, D.P.T.; TEIXEIRA, P.J.L.; OLIVEIRA, H.C.; SAVIANI, E.E.; RINCONES, J.; TONI, I.M.; REIS, O.; GARCIA, O.; MEINHARDT, L.W.; SALGADO, I.; PEREIRA, G.A.G. The hemibiotrophic cacao pathogen *Moniliophthora perniciosa* depends on a mitochondrial alternative oxidase for biotrophic development. **New Phytologist**, v. 194, n. 4, p. 1025-1034, 2012. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2012.04119.x.

VENTURIERI, G. A. Flowering levels, harvest season and yields of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*). **Acta Amazônica**, v. 41, n. 1, p. 143-152. 2011. DOI: 10.1590/S0044-59672011000100017

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, CITOGENÉTICA E MOLECULAR DE TRIGO COMO SUBSÍDIO AO MELHORAMENTO GENÉTICO, REGISTRO E PROTEÇÃO DE CULTIVARES

Gabrieli Scariot

Universidade de Passo Fundo, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Passo Fundo – RS.

Sandra Patussi Brammer

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS.

Pedro Luiz Scheeren

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS.

Ricardo Lima de Castro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS.

Simone Meredith Scheffer-Basso

Universidade de Passo Fundo, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Passo Fundo – RS.

RESUMO: O objetivo do trabalho foi caracterizar, em dois anos consecutivos, as cultivares de trigo BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo quanto aos aspectos morfológicos, citogenéticos e moleculares, fornecendo subsídios às análises de uniformidade e estabilidade genética para fins de registro e proteção de cultivares. Os descritores número de espiguetas por espiga, número de grãos por espiga e comprimento do dente da gluma, apresentaram coeficiente de variação próximo ou acima de 20%. Os grãos de pólen uninucleados variaram de 1,16 a 1,57%, os bi/trinucleados, de 95,8 a 98,0% e os vazios

de 1,20 a 1,52%; o diâmetro variou de 53,80 a 61,77 μm . Para as análises moleculares e determinação da distância genética, entre as cultivares, foi evidenciado três grupos distintos. Este trabalho representa uma contribuição para o estudo de descritores morfológicos e permite inferir sobre a estabilidade genética de cultivares, por meio da análise citológica, e diversidade genética via marcadores moleculares.

PALAVRAS-CHAVE: *Triticum aestivum*, descritores morfológicos, distância genética, microsatélites, viabilidade polínica.

MORPHOLOGICAL, CYTOGENETIC AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF WHEAT AS SUPPORT TO GENETIC BREEDING, REGISTRATION AND PROTECTION CULTIVARS

ABSTRACT: The aim of this work was to characterize in two consecutive years the morphological, cytogenetic and molecular aspects of wheat cultivars BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim and BRS Parrudo to supply subsidies to the analysis of genetic uniformity and stability for registration and protection of plant varieties. The descriptors number of spikelets by spike, number of grains by spike and tooth length of glume, showed coefficient of variation near of above 20%. Considering the cytogenetic analyzes,

uninucleate pollen grains ranged from 1.16 to 1.57%, Bi / trinucleate 95.8 to 98.0% and empty from 1.20 to 1.52%, and the diameter ranged from 53.80 to 61.77 μm . For molecular analysis and determination of genetic distance between cultivars were evidenced three distinct groups. This work represents a contribution to the study of morphological descriptors and allows us to infer the genetic stability of cultivars by means of cytological and genetic diversity via molecular markers.

KEYWORDS: *Triticum aestivum*, morphological descriptors, genetic distance, microsatellites, pollen viability.

1 | INTRODUÇÃO

O registro e proteção de cultivares exige dois ou três anos de testes de ensaios de Valor de Cultivo e Uso (VCU), por região de adaptação e por Estado, conforme o número de locais, além da determinação de Distinguibilidade, Homogeneidade e Estabilidade (DHE). Esses testes consistem na avaliação de uma série de características morfológicas nos diferentes estádios de desenvolvimento da planta. Tais características, denominadas descritores mínimos, são específicas para cada espécie e recomendadas pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), vinculado ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2019a).

Apesar de recomendado, o emprego dos descritores mínimos para caracterização de trigo apresenta algumas limitações, em virtude das variações climáticas e ambientais. Além da descrição morfológica, outras metodologias podem auxiliar na caracterização de espécies vegetais para fins de proteção e registro. SANTOS et al. (2017) destacam que os caracteres morfológicos e fenológicos são utilizados na seleção, cruzamentos e descrição de genótipos e que a sua instabilidade frente a alterações ambientais pode determinar o seu valor na etapa de proteção de cultivares.

Além dos descritores morfológicos exigidos pelo SNPC, ressalta-se a necessidade de diferentes métodos adicionais para a completa caracterização de cultivares. A avaliação citogenética, principalmente na seleção assistida em programas de melhoramento genético é uma metodologia útil para a escolha dos parentais e demais cruzamentos, visando avaliar e inferir de modo rápido e eficiente à estabilidade genética (TONIAZZO et al., 2018). Os estudos de viabilidade polínica possibilitam estimar a ocorrência de células normais e viáveis, bem como de anormalidades que afetam a fertilidade e que são responsáveis pela ocorrência de progênies desuniformes nos cruzamentos e prejudicam a adaptação de cultivares a diferentes ambientes (MORAES-FERNANDES et al., 2000).

Já, o uso potencial de marcadores moleculares para a caracterização de cultivares, bem como para a determinação da similaridade/distância genética, permite com maior precisão a análise entre os indivíduos/genótipos, uma vez que não sofrem a influência do ambiente. Com a recente disponibilidade de tecnologias de DNA, que revelam elevado nível de polimorfismo, repetibilidade e consistência nos resultados,

é provável que os marcadores moleculares passem a ser incluídos no registro e/ou proteção de germoplasma. Dentro dos programas de melhoramento, o interesse pela caracterização molecular ou pelo *fingerprinting* das cultivares vem crescendo, prioritariamente para o processo de proteção legal dos genótipos desenvolvidos, contribuindo para descrição detalhada dos mesmos (NANDAKUMAR et al., 2004; SIDDRA, 2011). Isso porque o elevado nível de resolução genética e confiabilidade possibilita a discriminação entre linhagens ou variedades com base genética estreita, o que é comum entre variedades comerciais (BORÉM, 1999).

No presente trabalho, objetivou-se caracterizar cultivares de trigo quanto aos aspectos morfológicos, citogenéticos e moleculares, a fim de verificar a uniformidade, estabilidade e a distância genética, fornecendo subsídios ao melhoramento genético, registro e proteção de cultivares.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

As cultivares de trigo avaliadas foram BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo, cuja escolha deveu-se à constituição genética, ao método de seleção, à forma de obtenção e ao ano de lançamento (Tabela 1). As plantas foram cultivadas em ensaios de VCU no Campo Experimental da Embrapa Trigo – Passo Fundo, em dois anos consecutivos, sendo a semeadura realizada na época recomendada pelo Zoneamento Agrícola de Risco Climático para o cultivo de trigo (BRASIL, 2019b). No primeiro ano, as parcelas foram compostas de nove fileiras de 100 m x 10 m e no segundo, as parcelas foram compostas de nove fileiras de 11,1 m x 1,8 m, sendo o espaçamento entre linhas de 0,17 m. A condução dos ensaios foi realizada de acordo com as indicações técnicas (REUNIÃO, 2017).

Genótipos	Genealogia	Método de seleção
BRS 327	CEP 24/BRS 194	Massal
BRS 331	PF 990606/WT 98109	Duplo-haploide
BRS 374	PF 88618/Koker 80.33//Frontana/Karl	Massal
BRS Guamirim	EMB 27/Buck Nandu//PF 93159	Genealógico
BRS Parrudo	WT 98109/TB 0001	Genealógico

Tabela 1 - Cultivares de trigo, genealogias e métodos de seleção usados na caracterização morfológica, citogenética e molecular

Fonte: Adaptada de: Informações Técnicas para Trigo e Triticale Safra 2013/Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale, 2013.

Para a mensuração dos caracteres morfológicos do primeiro ano, plantas no estágio 90 da escala de ZADOKS et al. (1974) foram cortadas rente ao solo e analisados vinte afilhos principais de cada planta por cultivar. Para o segundo ano,

foram coletadas plantas inteiras e analisados trinta afilhos das cinco cultivares. A caracterização foi de acordo com os descritores mínimos para trigo para caracteres multicategóricos e caracteres quantitativos, conforme SCHEEREN (1984) e (BRASIL, 2019a).

Os caracteres multicategóricos avaliados foram: forma do ombro da gluma e forma do grão. Os caracteres quantitativos foram: número de espiguetas por espiga e de grãos por espiga; comprimento e densidade da espiga; comprimento e largura da gluma; comprimento do dente da gluma; largura e comprimento do grão e altura da planta. Procederam-se as análises de variância para os caracteres quantitativos e multivariada para ambos os tipos de caracteres, além da comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Para ilustrar a distância genética entre as amostras foi estimada a matriz de distância de Mahalanobis (D^2) para os caracteres quantitativos. Quanto aos caracteres multicategóricos, foi gerada a distância euclidiana média. Para demonstrar a relação entre as cultivares, mediante dendrogramas, foi escolhido o método ligação média entre grupos (UPGMA). Para os dois tipos de variáveis foram obtidos a contribuição relativa dos caracteres para divergência genética pelo método de SINGH (1981). As análises estatísticas foram realizadas pelo programa Genes (CRUZ, 2006).

Para as análises da viabilidade polínica e tamanho dos grãos de pólen, a coleta das espigas foi feita na fase do espigamento completo e antes da antese (Estádio 10.5 da escala de Feekes e Large, proposto por LARGE, 1954). Foram coletadas 25 espigas, fixadas em Carnoy por 24 horas em temperatura ambiente, seguido de armazenamento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. As lâminas citológicas foram preparadas a partir de maceração das anteras, provenientes da região central das espigas, utilizando o corante carmin acético 1% e visualização em microscópio óptico Olympus – Axiolab, com aumento de 400x e captura das imagens pelo programa Pinnacle Studio Plus. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com a contagem de 100 grãos de pólen para cada uma das 25 lâminas por cultivar. Foram analisadas as porcentagens de grãos de pólen uninucleados, bi ou trinucleados, vazios ou inviáveis e médias do diâmetro dos grãos de pólen. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%, pelo programa Genes (CRUZ, 2006).

No caso das análises moleculares, por meio de marcadores microssatélites, 25 sementes, escolhidas aleatoriamente de cada cultivar, foram germinadas em papel Germitest até o estágio de plântula, visando à obtenção de tecido foliar para extração de DNA, conforme DOYLE & DOYLE (1990). Inicialmente, foram analisadas as cultivares individualmente para verificar sua pureza genética, sendo utilizados 12 *primers*. Após, foram avaliados 85 *primers*, disponíveis na literatura e específicos para trigo, com a estratégia de *bulks* de DNA, os quais foram escolhidas 16 plantas das 25 analisadas individualmente para cada cultivar. A concentração final do DNA dos *bulks* ficou com $25\text{ ng}/\mu\text{l}^{-1}$. As amplificações da PCR foram realizadas em $15\mu\text{l}$ de solução

contendo 0,2 μM de cada *primer* (*forward* e *reverse*), 0,2 mM de cada dNTP, 2,5 mM de MgCl_2 , 0,75 U de Taq DNA polimerase, tampão 1X e 100 ng de DNA de cada *bulk*. As reações foram conduzidas em termociclador GeneAmp Thermal Cycler 9700 (Applied Biosystems) utilizando-se a seguinte programação: um ciclo a 94 °C por 3 min; 5 ciclos de 94 °C por 1 min, 60 °C por 1 min (decrecendo 1 °C por ciclo até 55 °C), 72 °C por 1 min; 30 ciclos de 94 °C por 1 min, 55 °C por 1 min, 72 °C por 1 min; e um ciclo de 72 °C por 10 min. Os produtos da amplificação foram identificados em gel de agarose 2% com marcador DNA Ladder de 100 pb, voltagem de 100V e visualizados em fotodocumentador digital GelDoc XR+ (Bio-Rad). A distância genética entre as cultivares foi determinada segundo NEI (1972). Os acessos foram agrupados pelo método UPGMA, onde as cultivares foram consideradas como unidades taxonômicas operacionais e as bandas obtidas pelos marcadores como caracteres binários. O programa utilizado para a geração dos dados foi o NTSYS (ROHLF, 1998).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando o primeiro ano de cultivo, os resultados das análises morfológicas apresentaram variação para as seguintes características: número de espiguetas por espiga (NE), número de grãos por espiga (NG), comprimento da espiga (CE), densidade da espiga (DE), comprimento da gluma (CGL), largura da gluma (LGL), largura do grão (LG) e comprimento do grão (CG). O coeficiente de variação foi baixo ou médio, permitindo a diferenciação das cultivares com maior exatidão. Entretanto, no caso do comprimento do dente da gluma, o CV foi próximo ou maior do que 20%, indicando que essa característica é menos confiável para diferenciar uma cultivar. Tal situação pode ser respaldada pelo fato de que nos requisitos mínimos do VCU de trigo para inscrição no Registro Nacional de Cultivares (RNC), não são considerados resultados de experimentos com coeficientes de variação superiores a 20%. Quanto menor o coeficiente de variação (menor ou igual a 15%) mais homogêneo é o conjunto de dados. Para o segundo ano, os resultados indicaram que para número de grãos por espiga e comprimento do dente da gluma as cinco cultivares apresentaram CV próximo ou acima de 20%. Para a característica número de espiguetas por espiga, somente as cultivares BRS Guamirim e BRS Parrudo apresentaram CV próximo ou acima de 20%.

Segundo BEUNINGEN et al. (1997), apesar da ocorrência indesejável da interação genótipo x ambiente na avaliação de caracteres morfológicos quantitativos em trigo, esse tipo de estudo apresenta muitas vantagens, tais como a utilização de genótipos uniformes com caracteres altamente herdáveis e frequente ocorrência de heterose, quando cruzados genótipos diferenciados a partir de caracteres morfológicos.

Os valores de D, no primeiro ano, indicaram as cultivares BRS 327 e BRS 374 como as mais divergentes. A maior similaridade verificou-se nas cultivares BRS

331 e BRS Guamirim. Os valores de D para caracteres multicategóricos apontou as cultivares BRS Guamirim e BRS Parrudo como as mais divergentes, em que a maior similaridade foi verificada entre as cultivares BRS 331 e BRS Guamirim. Para o segundo ano, os valores da D para caracteres quantitativos indicaram BRS 327 e BRS 374 como as mais divergentes ($D= 31,37$) e a menor similaridade ($D= 8,24$) entre BRS 331 e BRS Parrudo. Para os caracteres multicategóricos, as cultivares BRS 331 e BRS 374 foram as mais divergentes ($D= 1,76$), ao passo que a menor divergência ($D= 0,76$) foi verificada entre BRS 331 e BRS Parrudo.

A contribuição relativa dos caracteres quantitativos e dos caracteres multicategóricos para divergência genética está apresentada na Tabela 2. Entretanto, comparando-se os dois anos, os resultados foram diferentes, ressaltando a importância de avaliações em mais de um ano, uma vez que o ambiente interfere na expressão dos caracteres.

ANO I			
Caracteres	Valor	Caracteres	Valor
quantitativos	(%)	multicategóricos	(%)
Número de espiguetas por espiga	10,80	Comprimento da espiga	13,95
Número de grãos por espiga	9,67	Densidade da espiga	5,81
Comprimento da espiga	26,04	Forma do ombro da gluma	32,56
Densidade da espiga	10,57	Comprimento da gluma	2,33
Comprimento da gluma	17,45	Largura da gluma	2,33
Largura da gluma	1,73	Comprimento dente da gluma	3,49
Comprimento dente da gluma	10,01	Comprimento do grão	2,33
Largura do grão	4,51	Forma do grão	37,21
Comprimento do grão	9,23		
ANO II			
Caracteres	Valor	Caracteres	Valor
quantitativos	(%)	multicategóricos	(%)
Altura da planta	27,38	Altura da planta	14,55
Número de espiguetas por espiga	0,74	Comprimento da espiga	18,18
Número de grãos por espiga	5,31	Densidade da espiga	12,73
Comprimento da espiga	7,39	Forma do ombro da gluma	50,91
Densidade da espiga	15,53	Comprimento da gluma	3,63
Comprimento da gluma	15,53		
Largura da gluma	1,50		
Comprimento dente da gluma	15,11		
Largura do grão	11,38		
Comprimento do grão	0,16		

Tabela 2 - Contribuição relativa dos caracteres quantitativos e multicategóricos, em dois anos consecutivos de análises, para a divergência genética das cultivares de trigo BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo, pelo método de Singh (1981)

Quanto aos dendrogramas obtidos para os caracteres quantitativos e, considerando apenas o primeiro ano de cultivo (Figura 1A), foi observado uma divisão das cultivares em quatro grupos: um para a cultivar BRS 331 e BRS Guamirim, evidenciando que, de uma maneira geral, apresentam uniformidade para os caracteres; um para BRS 374; um para BRS 327 e um grupo para a cultivar BRS Parrudo. Para o dendrograma dos caracteres multicategóricos (Figura 1B) também se formaram os mesmos quatro grupos, considerando-se, em ambas as análises, como ponto de corte de 50% de distância relativa entre as amostras.

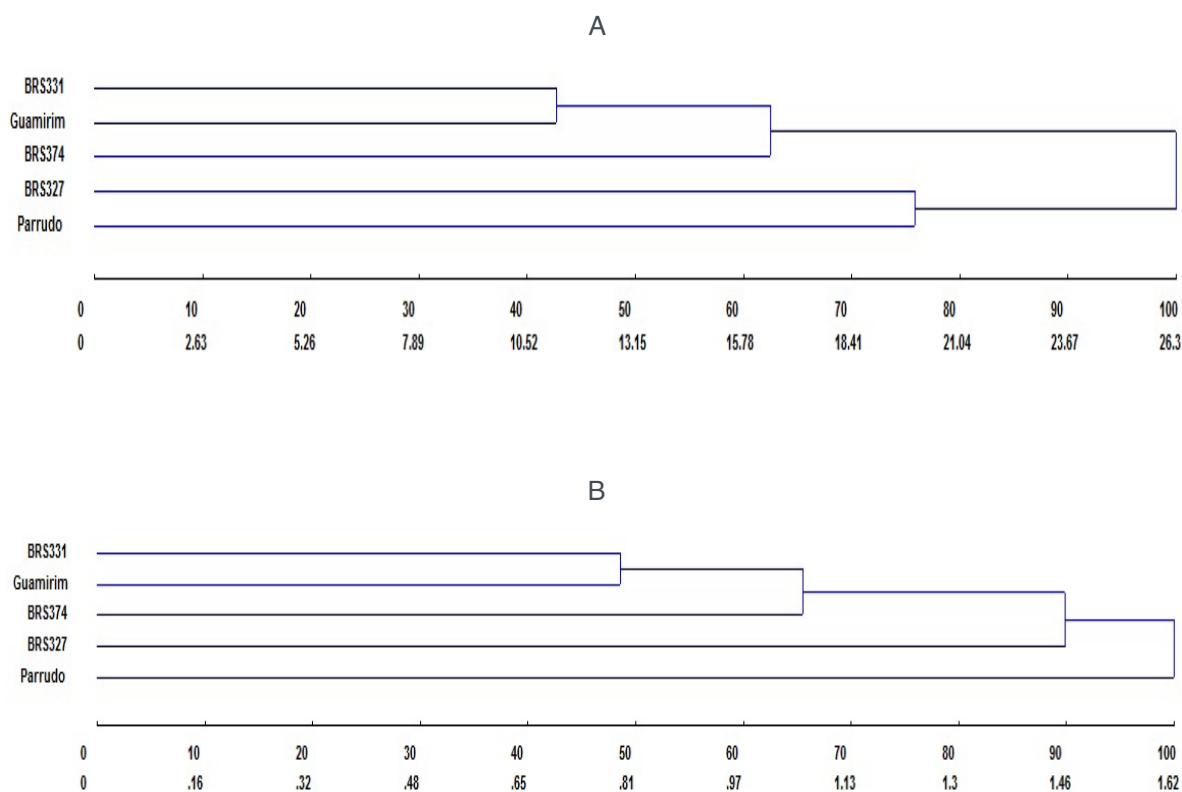


Figura 1. Dendrogramas obtidos pelo método de agrupamento UPGMA para os caracteres quantitativos (A) e multicategóricos (B), no primeiro ano de análise, para as cultivares BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo. Ponto de corte de 50% de distância relativa entre as amostras.

BERTAN et al. (2007) estimaram a distância genética entre genótipos de trigo sul-brasileiros para estabelecer o grau de associação entre caracteres fenotípicos e de coeficiente de parentesco e estabelecer o grau de associação entre as duas estimativas de distância genética avaliadas. Os resultados revelaram ausência de associação, pelo fato de não haver genealogia comum entre alguns dos genótipos testados ou inexistência de dados genealógicos de alguns genótipos.

Considerando a análise de viabilidade polínica (Tabela 3), a menor porcentagem de grãos de pólen uninucleados observada na cv. BRS 331 (duplo-haploide) é atribuída ao ciclo super precoce dessa cultivar. Por outro lado, a cv. BRS Guamirim, apesar de ser precoce a super precoce, tem longo período de florescimento (período de antese superior a três semanas).

Cultivar	Uninucleados		Bi/Trinucleados		Vazios		Tamanho		Diâmetro	
	%		%		%				μm	
RS Parrudo	1,3	Ab	96,88	a	1,5	a	1,18	b	53,80	c
BRS 331	1,2	B	97,32	a	1,2	a	1,56	a	57,96	b
BRS	1,6	A	95,84	a	1,5	a	1,25	b	58,60	ab
BRS 327	1,2	Ab	98,00	a	1,3	a	1,31	ab	61,26	ab
BRS 374	1,4	Ab	96,96	a	1,2	a	1,42	ab	61,77	a

Tabela 3 - Porcentagem de grãos de pólen unicleados, bi/trinucleados, vazios, tamanho e diâmetro nas cultivares BRS Parrudo, BRS 331, BRS Guamirim, BRS 327 e BRS 374

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

Esse tipo de análise representa ser extremamente útil como ferramenta de apoio em programas de melhoramento genético, pois, rapidamente, centenas de grãos de pólen podem ser examinados de modo eficiente (ZANOTTO et al., 2009). Além disso, a seleção assistida pela análise citológica de grãos de pólen é potencialmente útil, uma vez que cruzamentos feitos entre plantas portadoras de polens inviáveis resultarão em plantas estéreis e numa menor produção de grãos. Segundo MORAES-FERNANDES et al. (1991), estresses bióticos e abióticos são fatores importantes no aumento de anormalidades cromossômicas responsáveis pela ocorrência de tipos desviantes, e que, dependendo das anormalidades cromossômicas, pode acontecer esterilidade do grão de pólen ou da oosfera portadora da anomalia. Se a fertilidade das células reprodutoras não for afetada e ocorrer a formação do grão de pólen, poderão ocorrer problemas que afetam o desenvolvimento posterior, como má germinação, falhas na formação dos estames, anormalidades de ciclo, de porte ou de forma de espiga, até, finalmente, a esterilidade da progênie.

Os resultados obtidos no presente trabalho, corroboram com outros estudos para diferentes espécies, em que, normalmente, a viabilidade polínica fica acima de 90 %, quando analisada em materiais homocigotos como é o caso de cultivares (KELLY et al., 2002). Quanto ao tamanho médio dos grãos de pólen, a cultivar BRS 374 teve o maior diâmetro com 61,77 μm e a menor porcentagem de grãos de pólen inviáveis (1,20%). Ao contrário, a cultivar BRS Parrudo teve o menor diâmetro entre as cultivares, com 53,80 μm , e porcentagem de inviáveis de 1,52%.

Quanto aos marcadores moleculares microssatélites, utilizados nesse trabalho, permitiram verificar os *primers* monomórficos ou polimórficos. Essa avaliação possibilitou a escolha de 16 DNAs para a formação dos *bulks*. O uso de marcadores moleculares, com a estratégia de *bulks* de DNA em estudos de diversidade genética, permite avaliar grande número de populações em curto espaço de tempo, reduzindo drasticamente o número de amostras a serem processadas e preservando os alelos mais frequentes de cada população (BRESOLIN et al., 2007). Os marcadores microssatélites são altamente informativos e de grande potencialidade em estudos de

similaridade/diversidade genética, os quais vêm sendo empregados rotineiramente em programas de melhoramento de muitas espécies, principalmente pelo elevado polimorfismo gerado (VARSHNEY et al., 2005; VIEIRA et al., 2016).

De acordo com GUIMARÃES et al. (2004), a introdução de técnicas moleculares para caracterizar e identificar cultivares é um processo atual e, apesar de ainda não ser reconhecida como metodologia oficial, vem sendo fortalecida em função do alto grau de precisão e informação que pode ser obtido pelo *fingerprinting* molecular. No presente estudo, a estratégia de *bulks* para a avaliação da diversidade genética, foi muito eficiente, uma vez que dos 85 *primers* avaliados, 51 (60%) apresentaram polimorfismo. As análises da presença/ausência de alelos, possibilitou determinar a distância genética entre as cultivares. O dendrograma, obtido a partir da matriz, mostrou que as cultivares mais distantes foram BRS Guamirim e BRS Parrudo e as mais similares foram BRS 331 e BRS Parrudo, considerando o ponto de corte de 45% de distância relativa entre as amostras (Figura 2).

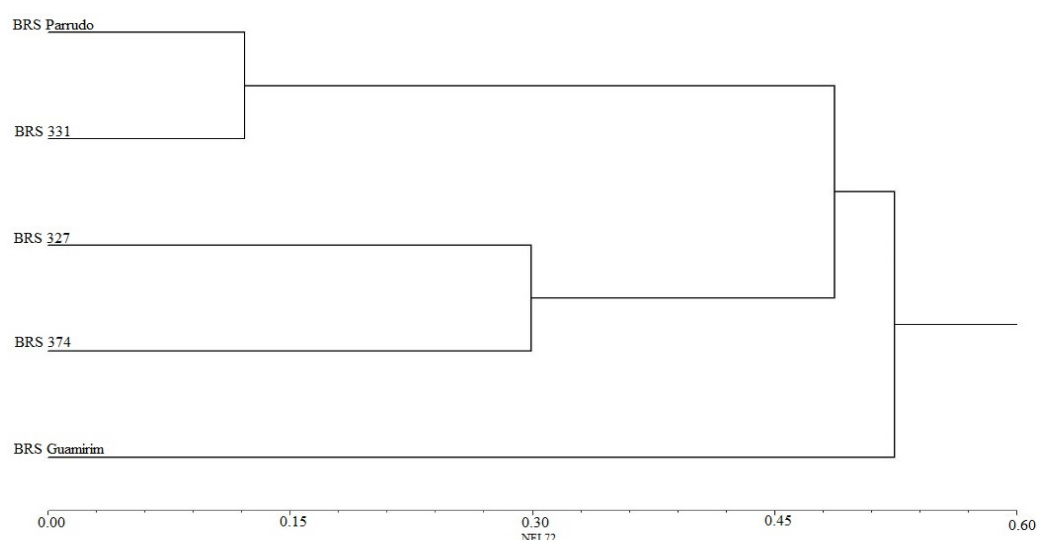


Figura 2 - Dendrograma obtido para as cultivares BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo a partir da distância de NEI (1972) e com base nos padrões polimórficos gerados pelos marcadores microssatélites. Ponto de corte de 45% de distância relativa entre as amostras.

A menor distância genética obtida entre BRS Parrudo e BRS 331 é explicada pelo fato de ambas terem como ancestral comum à linhagem WT 98108. No caso de BRS 327 e BRS 374, essas são cultivares recentes e a proximidade também é explicada pelo fato de ambas terem suas sementes reunidas na geração F_6 , com aproximadamente 97% de homozigose. A cv. BRS Guamirim distanciou-se das demais, principalmente pela sua genealogia, mas também porque suas sementes foram reunidas com aproximadamente 99% de homozigose. Portanto, a partir dos resultados obtidos, ficou evidente a eficiência do método empregado, bem como da escolha do marcador e do número de marcas avaliadas, pois os agrupamentos obtidos foram de acordo com o esperado.

4 | CONCLUSÕES

Número de espiguetas por espiga, número de grãos por espiga e comprimento do dente da gluma devem ser utilizados com cautela na caracterização de trigo, quando apresentam variações acima de 20%, pois interferem na caracterização eficiente nos ensaios de VCU e de DHE.

A análise de viabilidade polínica em trigo permite inferir sobre a fertilidade do pólen e a estabilidade genética, pois distinguem eficientemente grãos de pólen viáveis e inviáveis de modo simples, rápido e com baixo custo.

Por sua vez, o uso dos marcadores moleculares serve como uma ferramenta importante para a definição das distâncias e dos agrupamentos entre as cultivares.

REFERÊNCIAS

BERTAN, I.; VIEIRA, E.A.; CARVALHO, F.I.F.; COSTA DE OLIVEIRA, A.; SCHEEREN, P.L.; OLIVO, F. Variabilidade genética em trigo aferida por meio da distância genealógica e morfológica. **Scientia Agraria**, v. 8, n. 1, p. 67-74, 2007.

BEUNINGEN, L.T.; BUSCH, R.H. Genetic diversity among North American spring wheat cultivars: III. Cluster analysis based on quantitative morphological traits. **Crop Science**, v. 37, p. 981-988, 1997.

BORÉM, A. (Ed). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa, MG: UFV, 1999. 817 p.

BRASIL, 2019a. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Proteção de Cultivares**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/aceso-a-informacao/acoes-e-programas/cartas-de-servico/desenvolvimento-agropecuário-cooperativismo-e-associativismo-rural/protacao-de-cultivares>.

BRASIL, 2019b. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Zoneamento Agrícola**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/riscos-seguro/risco-agropecuário/zoneamento-agricola>.

BRESOLIN, A.P.; CASTRO, C.M.; COSTA DE OLIVEIRA, A. (Ed). Bulks de DNA na caracterização de germoplasma vegetal. **Documentos online nº 218 / Embrapa Clima Temperado**, 26p, 2007. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-publicacoes/-/publicacao/745031/bulks-de-dna-na-caracterizacao-de-germoplasma-vegetal>.

CRUZ, C.D. **Programa Genes**: estatística experimental e matrizes. UFV, 2006. 285p.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissues. **Focus**, v. 12. n. 1, p. 13-15, 1990.

GUIMARÃES, C.T.; PADILHA, L.; SOUZA, I.R.P.; PAIVA, E. “Fingerprinting” Molecular de Linhagens de Milho. **Comunicado Técnico online nº 92 / Embrapa Milho e Sorgo**, 4p, 2004. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/25657/1/Com-92.pdf>.

KELLY, J.K.; RASCH, A.; KALISZ, S. A method to estimate pollen viability from pollen size variation. **American Journal of Botany**, v. 89, p.1021-1023, 2002.

LARGE, E.C. Growth stages in cereals illustration of the feekes scale. **Plant Pathology**, v 3, p. 128-129, 1954.

NANDAKUMAR, N.; SINGH, A.K.; SHARMA, R.K.; MOHAPATRA, T.; PRABHU, K.V.; ZAMAN, F.U.

Molecular fingerprinting of hybrids and assessment of genetic purity of hybrid seeds in rice using microsatellite markers. **Euphytica**, v. 136, p. 257–264, 2004.

MORAES-FERNANDES, M.I.B.; BODANEZE-ZANETTINI, M.H.; ZANATTA, A.C.A. Fatores responsáveis pela desuniformidade varietal no trigo *Triticum aestivum* (L.) Thell e o papel da instabilidade cromossômica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 353-369, 1991.

MORAES-FERNANDES, M.I.B.; ZANATTA, A.C.A.; PRESTES, A.M.; CAETANO, V.R.; BARCELLOS, A.L.; ANGRA, D.C.; PANDOLFI, V. Cytogenetics and immature culture embryo at Embrapa Trigo breeding program: transfer of disease from related species by artificial resynthesis of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell). **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, p.1051-1062, 2000.

NASS, L.L. (Ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 858p.

NEI, M. Genetic distance between populations. **American Naturalist**, v.106, p. 283–292, 1972.

REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE. **Informações técnicas para trigo e triticale - safra 2017**. Embrapa, 2017. 240p. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/155787/1/Informacoes-Tecnicas-para-Trigo-e-Triticale-Safra-2017-OL.pdf>.

ROHLF, J.F. **NTSYS – pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System**. Versão 2.0. New York: Applied Biostatistics Inc, 1998.

SANTOS, J.; SCHEFFER-BASSO, S.M.; LÂNGARO, N.C.; BRAMMER, S.P. Instability of the expression of morphological and phenological descriptors to environmental variation in white oat. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 2, p. 683-698, 2017.

SCHEEREN, P.L. **Instruções para utilização de descritores de trigo (*Triticum* sp.) e triticale (*Triticosecale* sp.)**. Passo Fundo, EMBRAPA-CNPT, 1984. 32p.

SIDDRA, I. Microsatellite markers: An important fingerprinting tool for characterization of crop plants. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 40, p. 7723-7726, 2011.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **The Indian Journal of Genetic and Plant Breeding**, v.41, p.237-245, 1981.

TONIAZZO, C.; BRAMMER, S.P.; CARGNIN, A.; WIETHÖLTER, P. Ocorrência de micronúcleos e inferência da instabilidade genética em acessos de trigos sintéticos. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento online nº 88 / Embrapa Trigo**, 18p, 2018. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1091920/1/ID443292017BPDO88.pdf>.

VARSHNEY, R.K.; GRANER, A.; SORRELLS, M.E. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. **Trends in Biotechnology**, v. 23, n. 1, p. 48-55, 2005.

VIEIRA, M.L.C.; SANTINI, L.; DINIZ, A.L.; MUNHOZ, C.F. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. **Genetics and Molecular Biology**, v. 39, n. 3, p. 312-328, 2016.

ZADOKS, J.C.; CHANG, T.T.; KONZAK, C.F. A decimal code for the growth stages of cereals. **Weed Research**, v. 14, n. 6, p. 415-421, 1974.

ZANOTTO, M.; BRAMMER, S.P.; NASCIMENTO JUNIOR, A.; SCAGLIUSI, S.M. Viabilidade polínica como seleção assistida no programa de melhoramento genético de triticale. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 2078-2082, 2009.

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA EM ESPIGAS DE POPULAÇÕES DE MILHO CRIOULO CULTIVADAS NA REGIÃO NORTE DO RIO GRANDE DO SUL

Ariel Rizzardo

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – *Campus* Sertão, Faculdade de Agronomia Sertão – RS

Bianca Oliveira Machado

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – *Campus* Sertão, Faculdade de Agronomia Sertão - RS

Cristina Slaviero

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – *Campus* Sertão, Faculdade de Agronomia Sertão - RS

Marcos Gatti Slaviero

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – *Campus* Sertão, Faculdade de Agronomia Sertão - RS

Karina da Silva

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – *Campus* Sertão, Faculdade de Agronomia Sertão - RS

Noryam Bervian Bispo

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – *Campus* Sertão, Departamento de fitotecnia, Melhoramento de plantas Sertão - RS

RESUMO: O milho é uma cultura de extrema importância econômica para o país. Além disso, o mesmo é utilizado como base alimentar de diversos povos, bem como, para a alimentação animal. O incremento na produtividade nos últimos anos foi notável, e este fato está relacionado, também, aos avanços obtidos na área de melhoramento da espécie. Encontrar genes que confirmam características de interesse às cultivares é fundamental, como por exemplo resistência a doenças ou incremento de qualidade nutricional do grão. Neste sentido, as variedades crioulas de milho se destacam pela sua ampla diversidade genética. Desta forma, a caracterização desses materiais é importante para avaliar essas características de interesse. Portanto, o objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização de populações de milho crioulo selecionadas de uma população base, quanto a caracteres da espiga, com foco na seleção de materiais para programas de melhoramento. O experimento foi realizado em Sertão-RS, na safra 2016/2017. Para o experimento, foram utilizadas 16 variedades de milho crioulo coletadas na região norte do Rio Grande do Sul. O mesmo foi conduzido no delineamento em blocos ao acaso, com parcelas subdivididas, com dois níveis de manejo tecnológico, e quatro repetições. Foram avaliados seis caracteres relacionados à espiga dos 16 genótipos de milho crioulo. Com o experimento, foi observada

diferença significativa entre as variedades para a maioria dos caracteres, apenas com exceção do caráter comprimento da espiga. Por fim, não foi observada diferença significativa entre os dois níveis de manejo para nenhum dos caracteres avaliados.

PALAVRAS-CHAVE: *landraces*, *Zea mays*, melhoramento de plantas, caracteres

MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF SPIKES FROM LANDRACES CORN POPULATIONS CULTIVATED IN THE NORTHERN REGION OF RIO GRANDE DO SUL

ABSTRACT: Maize is a crop of extreme economic importance for the country. In addition, it is used as the food base of several people as well as for animal feed. The increase in productivity in recent years was notable, and it is related, amongst others, to the advances obtained in corn breeding programs. Finding genes which confer characteristics of interest to the cultivars is crucial, such as resistance to diseases or increase of nutritional quality of the grain. In this context, the landraces maize varieties stand out for their wide genetic diversity. Therefore, the characterization of these materials is important to evaluate these characteristics of interest. Thus, the aim of this work was to characterize landraces corn populations selected from a base population, regarding spike characters, focusing on the selection of materials for breeding programs. The experiment was carried out in Sertão-RS, in the 2016/2017 harvest. It was implemented in a randomized complete block design, with subdivided plots, with two levels of technological management, and four replications. Six characters related to the ear of the 16 landraces corn genotypes were evaluated. With the experiment, a significant difference was observed between the varieties for most of the characters, except for the character length of the spike. Finally, no significant difference was observed between the two management levels for any of the evaluated characters.

KEYWORDS: *landraces*, *Zea mays*, plant breeding, characters

1 | INTRODUÇÃO

Dentre as plantas cultivadas, o milho é uma cultura de importância ímpar para o homem, uma vez que é utilizada diretamente para consumo humano, principalmente como fonte de energia, e, também, para a produção de carne e leite, já que o cereal é amplamente utilizado como matéria prima na alimentação animal.

A diversidade genética existente no milho permite o seu cultivo nos mais diversos ambientes (ARAUJO; NASS, 2002). No Brasil, o cereal é amplamente difundido. Estimativas do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos apontam para uma produção recorde da safra brasileira 2016/2017, com aproximadamente 97 milhões de toneladas do grão, em uma área cultivada de cerca de 17,5 milhões de hectares (USDA, 2017).

O milho é a cultura que apresentou maior incremento no seu potencial produtivo na segunda metade do século XX (SILVA, 2014), esse fato está relacionado, dentre

outros, ao processo de melhoramento genético da espécie, que vem desenvolvendo híbridos com alto potencial produtivo. Todavia, Silveira et al. (2015), apontam que, devido a isso, esses materiais são mais dependentes de insumos externos e de maiores níveis tecnológicos.

As variedades de milho crioulas, são plantas mais rústicas, que não necessitam de alto nível tecnológico e de insumos, além disso, possuem elevado potencial de adaptação para condições ambientais específicas (PATERNIANI et al., 2000). Ainda, permitem que os agricultores armazenem as sementes para cultivo em safras seguintes, o que também diminui consideravelmente os custos de produção (SILVEIRA et al., 2015). Sandri e Tofanelli (2008), afirmam ter obtido uma taxa de retorno de 112% no cultivo de variedades crioulas, justificado pelo menor investimento em insumos quando comparado com o cultivo de híbridos, deste modo, podem ser uma alternativa para os agricultores familiares.

A caracterização agrônômica de cultivares é de extrema importância, pois permite auxiliar no processo de escolha de materiais que melhor se adaptem às condições de cultivo (SANTOS et al., 2010). Alguns caracteres relacionados à espiga, como o número de grãos e fileiras por espiga, além da massa média do grão, são extremamente importantes, pois apresentam correlação positiva na produtividade do milho (BALBINOT JR et al., 2005).

Portanto, o objetivo deste trabalho é realizar a caracterização de populações de milho crioulo selecionadas de uma população base, quanto a caracteres da espiga, visando a melhor identificação dos materiais, bem como analisar o potencial de uso em programas de melhoramento.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na área experimental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – *Campus Sertão* na safra 2016/2017. Segundo a classificação climática de Köppen, o clima predominante da região é Mesotérmico Úmido (Cfa), com precipitação média anual de 1803,1 mm, com chuvas bem distribuídas durante o ano, com uma temperatura média anual de 17,7 °C (EMBRAPA, 2016). O tipo de solo predominante é classificado como Nitossolo Vermelho (EMBRAPA, 2006).

Para o experimento, foram utilizadas 16 variedades de milho crioulo, selecionadas de um total de 34 variedades cultivadas na safra 2015/2016, que haviam sido coletadas com agricultores nas regiões Norte e Nordeste do Rio Grande do Sul e, também, em eventos relacionados à conservação de sementes crioulas.

A semeadura foi realizada no dia 22 de setembro de 2016, e o experimento foi conduzido no delineamento em blocos ao acaso, com parcelas subdivididas e quatro repetições. Cada parcela foi composta por 8 metros de comprimento, com duas fileiras

espaçadas a 0,80 m, e uma população final de plantas de 50.000 por hectare.

A adubação foi realizada conforme a análise de solo da área. Foram utilizados dois níveis de manejo tecnológico: 350 kg.ha⁻¹ de adubo na base + 135 kg.ha⁻¹ de N em cobertura parcelado em duas aplicações; e 230 kg.ha⁻¹ de adubo na base + 67 kg.ha⁻¹ de N em cobertura em uma aplicação. Para adubação na base utilizou-se a fórmula de NPK 10-30-20 e em cobertura utilizou-se ureia (45% N), com aplicações em cobertura nos estádios V6 (seis folhas expandidas) e V8 (oito folhas expandidas) (RITCHIE et al., 1993).

Foram avaliados seis caracteres relacionados à espiga dos 16 genótipos de milho crioulo, para tal, utilizou-se 10 espigas por parcela de cada repetição, totalizando 40 espigas para cada variedade. Para os caracteres comprimento de espiga (CE), diâmetro da espiga (DE) e diâmetro de sabugo (DS) foi utilizado um paquímetro para determinação das medidas. A relação do diâmetro da espiga com sabugo (DE/DS) foi obtida pela razão do valor do diâmetro da espiga pelo diâmetro do sabugo. O número de fileiras por espiga (FE) foi determinado por contagem das fileiras das espigas. O comprimento do grão (CG) foi estimado indiretamente pela diferença entre diâmetro da espiga e diâmetro do sabugo. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância com auxílio do programa estatístico ASSISTAT® (SILVA; AZEVEDO, 2016) e comparados pelo teste de Tukey a 5% de significância.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com o experimento estão representados na Tabela 1. Foi observada diferença significativa entre as variedades para a maioria dos caracteres, apenas com exceção do caráter comprimento da espiga. Não foi observada diferença significativa entre os dois níveis de manejo para nenhum dos caracteres avaliados. Este fato demonstra a capacidade de adaptação das variedades crioulas mesmo em menor nível tecnológico, visto que as características não diferiram quando comparadas ao manejo de maior nível tecnológico. Além disso, o clima foi bastante favorável ao desenvolvimento do milho, apresentando produção recorde, como destacado anteriormente, o que acabou favorecendo as populações de milho crioulo, mesmo em baixo nível tecnológico.

A Tabela 1 mostra que o acesso denominado Cunha 2 teve maior diâmetro de espiga, com cerca de 46,8 cm, porém não diferiu de vários outros acessos. Esse dado demonstra uma característica da variedade crioula Cunha, que possui grande número de fileiras por espiga, o que acaba por aumentar o diâmetro da espiga, estando de acordo com o encontrado por Balbinot Jr et al., (2005) ao comparar diferentes variedades crioulas. Para Brachtvogel (2008), o diâmetro da espiga e do sabugo são caracteres que podem apresentar variabilidade, de acordo com o manejo empregado, o autor observou que a população de plantas pode ter influência nesses caracteres,

sendo que o aumento de número de plantas por hectare acarretou na diminuição dos valores do diâmetro da espiga e do sabugo.

Genótipo	DE (mm)	DS (mm)	DE/DS	FE	CG (mm)
Amarelo 3	46,24750 a*	23,96500 ab	1,94375 a	13,55625 abc	10,54720 a
Amarelo 5	41,72625 ab	23,02125 ab	1,71250 bcd	11,27500 efg	08,03402 bcde
Amarelo 6	39,57125 b	23,75375 ab	1,69625 bcd	10,49167 fg	07,94145 cde
Amarelo 8	40,58000 b	23,50875 ab	1,85125 ab	12,32500 bcdef	09,74731 abc
Amarelo 9	42,60125 ab	23,45000 ab	1,72500 bcd	10,59018 fg	08,32084 bcde
Branção 2	39,79250 b	21,70500 b	1,85125 ab	10,66250 fg	08,96366 ab-cde
Caiano	39,06500 b	26,32125 ab	1,82500 abc	12,91429 ab-cde	10,54608 a
Cunha 2	46,79750 a	24,80500 ab	1,80000 abcd	14,85000 a	09,56175 abcd
Grão Duro 1	39,73250 b	22,54250 ab	1,62625 cd	10,70853 fg	07,16504 e
Rajado 1	38,62750 b	25,45125 ab	1,60875 d	13,06845 ab-cde	07,52012 de
Rajado 2	41,95125 ab	22,91000 ab	1,88000 ab	11,55000 cdefg	10,09019 ab
Roxo 1	43,65625 ab	25,04875 ab	1,75750 abcd	13,43571 abcd	09,31930 abcd
Roxo 2	44,06750 ab	27,08250 a	1,68250 bcd	13,82500 ab	08,92375 ab-cde
Roxo 3	43,77625 ab	23,93125 ab	1,82500 abc	11,42500 defg	09,51563 abcd
Roxo 6	43,35000 ab	25,36625 ab	1,74250 abcd	12,03333 bcdef	09,07748 ab-cde
8CB2	41,77375 ab	21,70250 b	1,88875 ab	09,79861 g	09,40566 abcd
CV(%)	7,22	10,72	6,65	9,35	12,97

Tabela 1. Dados de diâmetro da espiga (DE), diâmetro do sabugo (DS), relação do diâmetro da espiga com sabugo (DE/DS), fileiras por espiga (FE) e comprimento de grão (CG) para os 16 acessos. Sertão-RS, 2017.

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade ($P>0,05$).

Quanto ao diâmetro do sabugo, observou-se que o Roxo 2 foi o acesso com maior diâmetro, todavia, não diferiu de outros acessos, já o 8CB2 foi o que apresentou o menor valor, porém, também não diferiu estatisticamente de outras variedades crioulas (Tabela 1). Conhecer a espessura do sabugo é importante pois segundo Andrade et al. (1996), um maior percentual de sabugo pode reduzir o valor nutricional de rações, ou ensilagem, em que se utiliza a espiga inteira, comprometendo o desempenho dos animais. Para melhor avaliar essa característica, pode-se observar a relação do diâmetro da espiga com o sabugo. Quanto maior a relação, maior a quantidade de grãos em relação ao volume de sabugo. Nesse sentido, o Amarelo 3 foi o que apresentou maior relação (1,94), todavia, não diferiu de outros acessos. Esses materiais, mostram um uso potencial para alimentação animal, quando utilizada a planta inteira, visto essa maior relação espiga/sabugo.

Para o caráter número de fileiras por espiga, verificou-se que o Cunha 2 apresentou maior valor (14,85), porém sem diferir do Amarelo 3, Caiano, Rajado 1, Roxo 1 e Roxo 2. Balbinot Jr et al., (2005), observaram que nas variedades crioulas testadas, o componente que apresentou o maior efeito direto sobre a produtividade foi o número de fileiras por espigas, demonstrando assim a importância desse caráter, principalmente no momento de seleção de materiais visando maiores produtividades. Além disso, o acesso 8CB2 apresentou média de cerca de 9,8 fileiras (Tabela 1), isso demonstra que o material está segregando, visto que uma característica desse acesso é possuir oito fileiras de grãos. Todavia, isto era esperado, já que a polinização não foi controlada.

Ao analisar o comprimento dos grãos, percebe-se que os mesmos variam de cerca de 7 mm à 10 mm. Brachtvogel (2008), ao avaliar o híbrido DOW 2B587, encontrou um comprimento de grão maior, cerca de 13 mm. O acesso Amarelo 3 foi o que apresentou maior valor, porém, não diferiu de outros acessos (Tabela 1). Lopes et al. (2007), apontam que, dentre outros fatores, o tamanho de grãos é uma característica potencial para elevação do rendimento de milho, visto que está relacionado também com o peso de grãos.

A caracterização dessas variedades crioulas é extremamente importante, pois, como são adaptadas localmente, podem apresentar características diferentes para cada região em que são cultivadas (PATERNIANI et al., 2000). Além disso, essas populações crioulas constituem uma fonte de variabilidade genética que pode ser explorada no melhoramento (ARAÚJO; NASS, 2002). Rosa et al. (2004) apontam que a caracterização agrônômica dos materiais genéticos é essencial para a escolha do genótipo que melhor atende as demandas dos agricultores. Assim, pode-se selecionar materiais para diferentes finalidades, seja para produtividade, alimentação animal, ou, até mesmo, resistência a doenças. Neste sentido, percebeu-se que as variedades crioulas analisadas apresentam potencial de utilização em programas de melhoramento.

4 | CONCLUSÃO

A caracterização dos materiais analisados obteve êxito, e foram observadas diferenças significativas dentre a maioria dos caracteres avaliados. Percebe-se também que, a partir da seleção realizada, as variedades coletadas sofreram uma segregação.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, João Batista et al. Porcentagem de grão, palha e sabugo na espiga de 20 cultivares de milho. **Boletim de Indústria Animal**, v. 53, p. 87-90, 1996.

ARAÚJO, Pedro Mário; NASS, Luciano Lourenço. Caracterização e avaliação de populações de milho

crioulo. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 3, p. 589-593, 2002.

BALBINOT JR, Alvadi et al. Contribuição de componentes de rendimento na produtividade de grãos em variedades de polinização aberta de milho. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 11, n. 2, 2005.

BRACHTVOGEL, Elizeu Luiz. **Densidades e arranjos populacionais de milho e componentes agrônômicos**. 2008. 96 p. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho. Botucatu, SP, 2008.

EMBRAPA. **Informações meteorológicas**. 2016. Disponível em: <<http://www.cnpt.embrapa.br/pesquisa/agromet/app/principal/>>. Acesso em: 12 de jun. 2017.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: EMBRAPA, 2006, 412 p.

LOPES, Sidinei José et al. Relações de causa e efeito em espigas de milho relacionadas aos tipos de híbridos. **Ciência Rural**, v. 37, n. 6, p. 1536-1542, 2007.

PATERNIANI, E.; NASS, L. L.; SANTOS, M. X. O valor dos recursos genéticos de milho para o Brasil: uma abordagem histórica da utilização do germoplasma. In: UDRY, C.W.; DUARTE, W. (Org.). **Uma história brasileira do milho: o valor dos recursos genéticos**. Brasília: Paralelo 15, 2000.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. How a corn plant develops. **Special Bulletin**, Iowa, n. 48. 1993.

ROSA, Joilmaro Rodrigo Pereira et al. Avaliação do comportamento agrônômico da planta e valor nutritivo da silagem de diferentes híbridos de milho (*Zea mays*, L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 2, p. 302-312, 2004.

SANDRI, César Augusto; TOFANELLI, Mauro Brasil Dias. Milho crioulo: uma alternativa para rentabilidade no campo. **Pesquisa Agropecuária Tropical (Agricultural Research in the Tropics)**, p. 59-61, 2008.

SANTOS, Rafael Dantas et al. Características agrônômicas de variedades de milho para produção de silagem. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 32, n. 4, p. 367-373, 2010

SILVA, Francisco de Assis Santos; AZEVEDO, Carlos Alberto Vieira de. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **Afr. J. Agric. Res**, v.11, n.39, p.3733-3740, 2016.

SILVA, Tallyta Nayara. **Caracterização agrônômica e morfológica de populações de milho**. 2014. 38 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, SP, 2014.

SILVEIRA, Diógenes Cecchin et al. Caracterização agromorfológica de variedades de milho crioulo (*Zea mays* L.) Na região noroeste do Rio Grande do Sul. **CIÊNCIA & TECNOLOGIA**, v. 1, n. 1, p. 01-11, 2015.

USDA. **World Agricultural Production**. United States Department of Agriculture – USDA. Circular Series, jun. 2017.

VARIABILIDADE DOS GENÓTIPOS DE MILHO DA ZONA DE TRANSIÇÃO AMAZÔNIA-CERRADO

Lucas Carneiro Maciel

Universidade Federal do Tocantins (UFT),
Agronomia
Gurupi – TO

Weder Ferreira dos Santos

Universidade Federal do Tocantins (UFT),
Professor, Engenharia de Bioprocessos e
Biotecnologia
Gurupi – TO

Rafael Marcelino da Silva

Universidade Federal do Tocantins (UFT),
Agronomia
Gurupi – TO

Layanni Ferreira Sodré

Universidade Federal do Tocantins (UFT), Pós-
Graduação em Agroenergia
Gurupi – TO

Laura Carneiro Silva

Universidade Federal do Tocantins (UFT),
Agronomia
Gurupi – TO

Zildiney Dantas da Silva

Universidade Federal do Tocantins (UFT),
Agronomia
Gurupi – TO

Jefferson da Silva Pereira

Universidade Federal do Tocantins (UFT),
Agronomia
Gurupi – TO

Fernando Assis de Assunção

Universidade Federal do Tocantins (UFT),
Agronomia
Gurupi – TO

Benício Lourenço Duarte Júnior

Universidade Federal do Tocantins (UFT),
Agronomia
Gurupi – TO

RESUMO: O estudo da divergência de genótipos possibilita combinações de linhagens promissoras visando a maior produtividade. O milho possui grande importância e se destaca como fonte de carboidratos e de vitaminas na alimentação humana e na formulação de ração animal. A zona de transição entre o Cerrado e a Floresta Amazônica brasileira é fonte de novos genótipos de milhos que podem ser empregados em cruzamentos. Assim, foi estimada a divergência genética de genótipos de milho que possibilitou a combinações destes para maior produtividade e qualidade dos grãos. O experimento foi conduzido na entressafra de 2010. Foram utilizadas sete características agrônômicas na análise multivariada. Os genótipos foram distribuídos em 6 grupos usando o método de otimização de Tocher. As combinações P13 x P17 e P9 x P17 foram as mais promissoras. E o rendimento de grãos, diâmetro e altura da espiga foram as características que mais contribuíram para divergência genética.

PALAVRAS-CHAVE: biometria, divergência genética, híbridos, Mahalanobis.

VARIABILITY OF CORN GENOTYPES FROM THE AMAZÔNIA-CERRADO TRANSITION ZONE

ABSTRACT: The study of the divergence of genotypes allows combinations of promising lines aiming for greater productivity. Corn has great importance and stands out as a source of carbohydrates and vitamins in human food and in the formulation of animal feed. The transition zone between the Cerrado and the Brazilian Amazon Forest is the source of new genotypes of humans that can be used in crosses. Thus, it was estimated the genetic divergence of maize genotypes that allowed combinations of these for higher productivity and grain quality. The experiment was conducted in the 2010 off season. Seven agronomic characteristics were used in the multivariate analysis. The genotypes were distributed in 6 groups using the Tocher optimization method. The combinations P13 x P17 and P9 x P17 were the most promising. And the yield of grain, diameter and height of the spike were the characteristics that contributed most to genetic divergence.

KEYWORDS: biometry, genetic divergence, hybrids, Mahalanobis.

1 | INTRODUÇÃO

Estudos de divergência genética são importantes para o conhecimento da variabilidade genética existente nos bancos de germoplasmas, possibilitando o monitoramento, auxiliando na identificação de possíveis duplicatas e fornecendo parâmetros para escolha de progenitores, que ao serem cruzados, possibilitem maior efeito heterótico, aumentando as chances de obtenção de genótipos superiores em gerações segregantes (CRUZ et al., 2014). De acordo com Fu et al. (2014), a heterose é a superioridade de vigor dos híbridos em relação aos seus pais, variando de acordo com a distância genética dos pais, podendo proporcionar aumentos de 15 a 50% no rendimento das culturas.

Nos programas de melhoramento de milho a heterose e a depressão da endogamia são fenômenos de grande importância (BERNINI et al., 2013). Assim, é importante definir grupos heteróticos o que pode acarretar em alto desempenho e maximizar a produção de milho (GIRAUD et al., 2017). Nos EUA, foram definidos os principais grupos heteróticos para produção de milho, sendo conhecidos como "Stalks rígidos" e os "Stalks não rígidos". Enquanto que na Europa, os principais grupos heteróticos principais são "Dent" e "Flint" (GIRAUD et al., 2017).

No Brasil, especificamente no Estado do Tocantins, a produtividade média do milho é baixa (4.594 kg ha^{-1}) quando comparada com a média nacional (5.605 kg ha^{-1}) (CONAB, 2019) devido, dentre outros fatores, as condições adversas de clima, o baixo nível tecnológico empregado pelos produtores e à escassez de cultivares melhoradas para condições de estresses abióticos (SIMON et al., 2016; SANTOS et al., 2017). Assim, o emprego e a classificação de grupos heteróticos neste estado brasileiro é necessário para adequação da produtividade milho em função dos

aspectos climáticos e melhoramento genético.

As técnicas de agrupamento visam dividir um grupo original de genótipos em vários grupos homogêneos, seguindo critério de similaridade. Entre os métodos de agrupamento mais utilizados no melhoramento de plantas, citam-se os hierárquicos e os de otimização. Como exemplo de método de otimização, tem-se o apresentado por Tocher (RAO, 1952), que vem sendo extensivamente utilizado em análises de divergência genética de várias espécies de plantas (PAIXÃO et al., 2008; CRUZ et al., 2014).

A utilização de técnicas multivariadas também é empregada para estimar a divergência genética em cultivares de milho (COIMBRA et al., 2010; DOTTO et al., 2010; CARVALHO et al., 2011; SIMON et al., 2012; ROTILI et al., 2012; SANTOS et al., 2014; SANTOS et al., 2015; SILVA et al., 2016; SANTOS et al., 2017). No entanto, na zona de transição Amazônia-Cerrado ainda são poucos os estudos sobre a divergência genética em genótipos de milho.

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo estimar a divergência genética entre genótipos de milho para identificação de combinações promissoras na obtenção de híbridos superiores e que possa maximizar a produtividade milho na zona de transição Amazônia-Cerrado.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na estação experimental da Universidade Federal do Tocantins – UFT no campus de Palmas, sob LATOSSOLO VERMELHO AMARELO distrófico (SANTOS et al., 2018), com clima do tipo Aw segundo a classificação de Köppen (DUBREUIL et al., 2017).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com 20 tratamentos e três repetições. Os tratamentos foram constituídos de genótipos de milho do programa de melhoramento da UFT, sendo denominadas: P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8, P9, P10, P11, P12, P13, P14, P15, P16, P17, P18, P19 e P20.

A parcela utilizada foi composta por quatro fileiras de 5,0 m, espaçadas a 0,9 m entre linhas. Na colheita, foram utilizadas somente as duas fileiras centrais de cada unidade experimental, descartando-se 0,5 m das extremidades destas fileiras.

Para o preparo de solo foi realizada uma gradagem seguida do nivelamento da área. A adubação de plantio foi realizada manualmente, utilizando 300 kg ha⁻¹ de N-P₂O₅-K₂O formulação 5-25-15+0,5% Zn.

A semeadura foi realizada na entressafra de 2010, de forma manual em sulco em uma profundidade média de 0,04 m. Após a emergência realizou-se o desbaste deixando um espaçamento de 0,20 m entre plantas, para se obter uma população de 55.555 plantas ha⁻¹.

Foi realizada uma adubação em cobertura no estágio V6, utilizando como fonte de nitrogênio a ureia (45% de N), na dose de 333 kg ha⁻¹. Os tratamentos culturais para o

controle de plantas infestantes, doenças e pragas foram realizados de acordo com as recomendações técnicas da cultura (GALVÃO et al., 2017).

A colheita foi realizada quando as plantas atingiram o estágio R6 (maturidade fisiológica). No laboratório de Produção Agropecuária – LPA da UFT, foram mensurados o diâmetro e o comprimento de 5 espigas por parcelas com uso de um paquímetro digital e a régua graduada, respectivamente. Para quantificar o número de fileiras por espiga e número de grãos por fileira foram feitas a contagem manualmente de 5 espigas por parcelas.

Depois de colhidas, as espigas foram trilhadas e os grãos de cada parcela acondicionados em um saco de papel, o qual foi identificado por genótipo e bloco. Foi realizado a determinação do rendimento de grãos por parcela, corrigido para 13% de umidade e extrapolado para hectare. A altura de planta e altura de espiga foram mensuradas no estágio R6 com uso de trena métrica, tomando a distância do nível do solo até a última folha totalmente aberta, e até a inserção da espiga, respectivamente.

Visando estudar a divergência genética foram utilizadas como variáveis no modelo multivariado as seguintes características: altura de planta (cm), altura de espiga (cm), comprimento de espiga (mm), diâmetro de espiga (mm), número de fileiras por espiga, número de grãos por fileira, rendimento de grãos (kg ha^{-1}).

As medidas de dissimilaridades foram determinadas segundo o modelo de análise multivariada, o que permitiu a obtenção das matrizes de dissimilaridades e de covariâncias residuais e das médias das populações. Foi aplicado o método de agrupamento de Tocher (RAO, 1952), utilizando a distância generalizada de Mahalanobis (D^2) (MAHALANOBIS, 1936), e o critério de Singh (1981) para quantificar a contribuição relativa das sete características avaliadas. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa Computacional Genes, versão 2007.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância revelou diferença significativa pelo teste de F ($p < 0,05$) entre as linhagens de milho para todas as características avaliadas. O coeficiente de variação (CV) para rendimento de grãos (5,10%) foi classificado como baixo, indicando boa precisão experimental (PIMENTEL-GOMES, 2009). Para as variáveis, altura de planta (3,27%), altura de espiga (7,37%) comprimento de espiga (3,74%), diâmetro de espiga (4,39%) e número de fileiras por espiga (4,91%) os CV são próximos aos encontrados por Paixão et al. (2008), Coimbra et al. (2010) e Dotto et al. (2010).

As medidas de dissimilaridade genética, estimadas a partir da distância de Mahalanobis (Figura 1), apresentaram elevada magnitude ($D^2 = 1,83$ a $144,24$), e demonstram presença de variabilidade genética entre os genótipos avaliados.

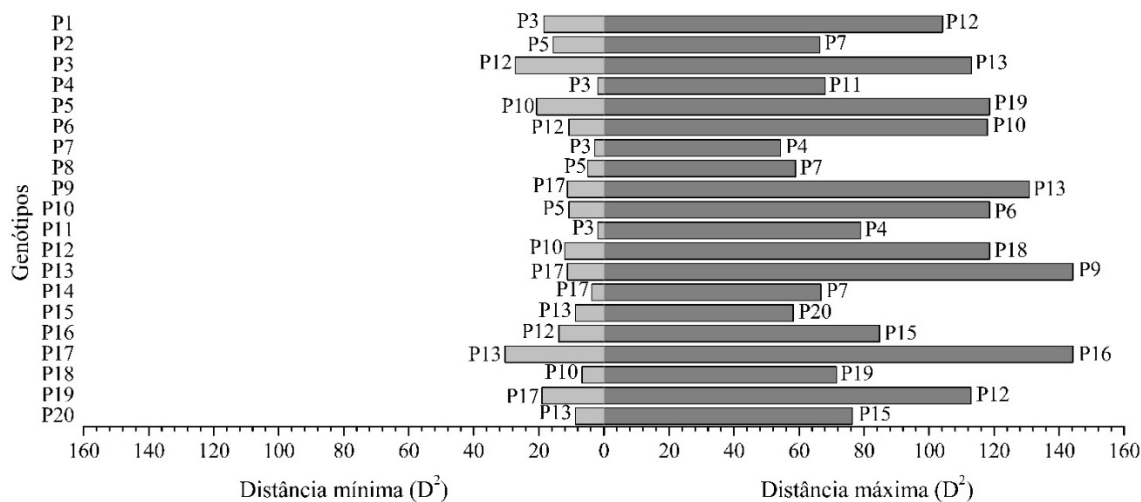


Figura 1. Estimativa das distâncias de Mahalanobis (D^2) máxima e mínima entre genótipos de milho.

A combinação P13 x P17 (Figura 1) foi a mais divergente ($D^2 = 144,24$), seguida pela combinação P9 x P17 ($D^2 = 130,87$). A menor distância foi observada pelos genótipos P4 x P11 ($D^2 = 1,83$), seguida pelo par P7 x P4 ($D^2 = 2,71$).

A menor distância entre P4 e P11 (Figura 1), ocorreu, provavelmente, em virtude de os genótipos dessas combinações serem oriundos de germoplasmas muito próximos. Em programas de melhoramento, deve-se evitar a hibridação entre genótipos com menor distância genética, ou seja, mais similares, uma vez que diminuiria o sucesso de híbridos com características desejáveis (SIMON et al., 2012). Já que para alcançar a máxima heterose é necessário combinar genótipos que se complementem, ou seja, nos locos em que um tenha alelos desfavoráveis o outro possua alelos favoráveis (RAMALHO et al., 2012).

A análise de agrupamento busca a formação de diferentes grupos de genótipos, onde haja homogeneidade dentro e heterogeneidade entre eles (CRUZ et al., 2014). Para isso, primeiro se obtém as medidas de dissimilaridade (Figura 1), então se adota uma técnica de agrupamento. Utilizando o método de otimização de Tocher foi possível a classificação dos genótipos em seis grupos (Figura 2).

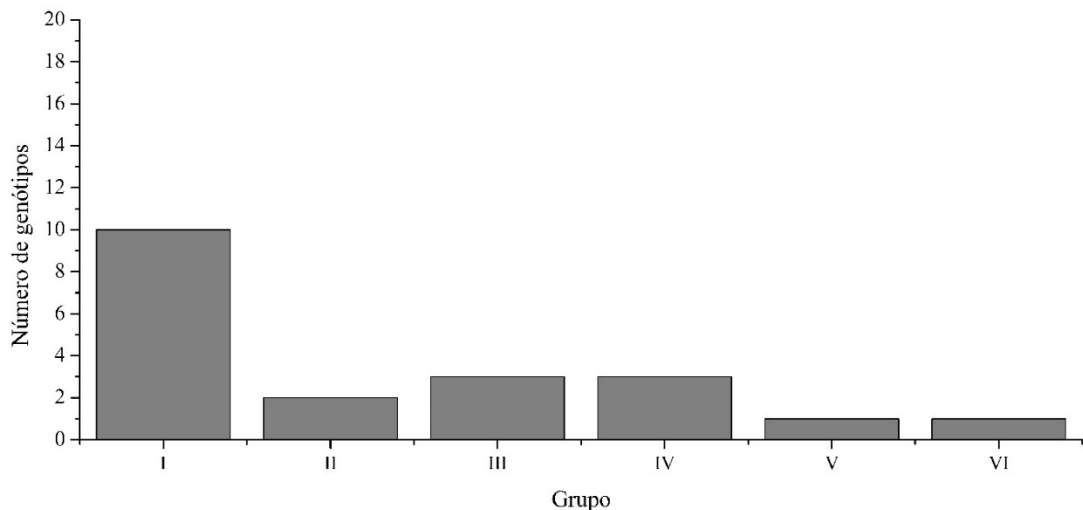


Figura 2. Agrupamento pelo método de Tocher, com base na divergência expressa pela distância generalizada de Mahalanobis (D^2).

Foi formado um grande grupo constituído por 10 genótipos (50% dos genótipos), um grupo com dois genótipos, dois grupos com três genótipos e dois grupos constituídos por apenas um genótipo. Segundo Cruz et al. (2011) grupos formados por apenas um genótipo aponta na direção de que o mesmo seja mais divergente em relação aos demais.

Ressalta-se que os genótipos que constituíram os pares mais divergentes (Figura 1), com base na matriz de distâncias de Mahalanobis, foram alocados em grupos distintos pelo método de otimização de Tocher (Figura 2). As diferenças apresentadas quanto à composição dos grupos, (Figura 2), podem ser explicadas pela expressão ou não expressão dos alelos favoráveis presentes nos genótipos.

As estimativas da contribuição relativa das cinco características avaliadas na dissimilaridade genética dos 20 genótipos estudados, são apresentadas na Figura 3. As características que mais contribuíram para divergência foram o rendimento de grãos (35,99%), seguida pela altura da espiga (17,71%) e diâmetro da espiga (14,00%). A característica que apresentou a menor contribuição foi número de grãos por fileiras (4,16%). Trabalhando com oito caracteres Rotili et al. (2012) também encontrou produtividade de grãos, diâmetro das espigas e altura de espiga como as de maior contribuição.

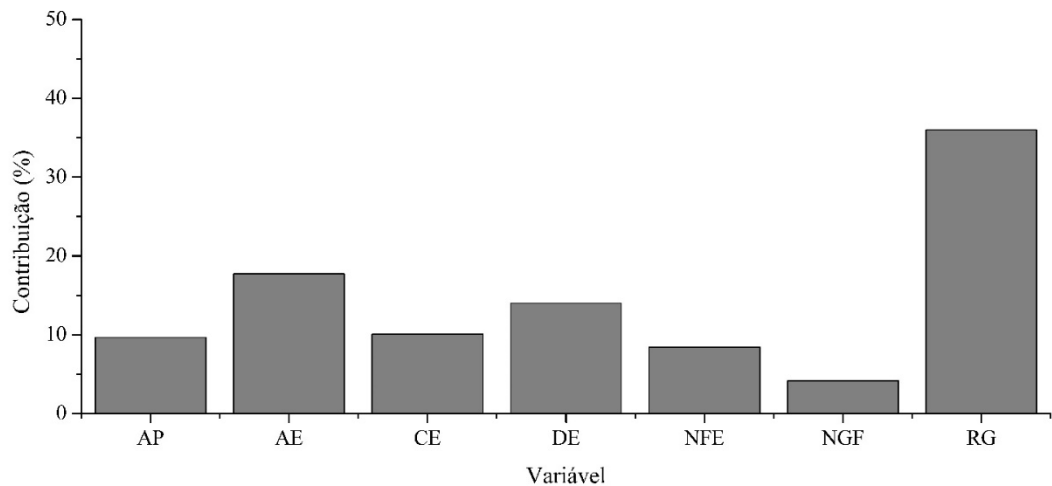


Figura 3. Contribuição relativa das características na divergência genética dos genótipos de milho.

De acordo com Cruz et al. (2014) as características de menor importância são aquelas que apresentam menor variabilidade ou estão representadas por outras. Então as variáveis com menor importância, como número de grãos por fileira, poderiam ser desconsideradas em análises de divergência genética futuras, o que proporcionaria redução de tempo, mão-de-obra e custos na experimentação (OLIVEIRA et al., 2006).

A análise das distâncias de Mahalanobis (Figura 1), juntamente com o agrupamento estabelecido pelo método de Tocher (Figura 2), permitiu identificar as combinações entre os genótipos P13 x P17 e P9 x P17 como promissoras.

4 | CONCLUSÕES

1. As combinações entre os genótipos P13 x P17 e P9 x P17, são promissoras para obtenção de híbridos superiores.

3. As características que mais contribuíram para divergência genética foram: rendimento de grãos, altura de espiga e diâmetro da espiga.

REFERÊNCIAS

BERNINI, C. S.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; DUARTE, A. P.; GALLO, P. B.; GUIMARÃES, P. D. S.; ROVARIS, S. R. S. Inbreeding depression and heterosis of hybrids in F2 populations of maize in the Sao Paulo State, Brazil. **Bragantia**, v.72, n.3, p.217-223, 2013.

CARVALHO, E. V.; AFFÉRI, F. S.; PELUZIO, J. M.; LEÃO, F. F.; CANCELLIER, L. L.; DOTTO, M. A. Eficiência e uso do nitrogênio em híbridos experimentais de milho do programa de melhoramento da Universidade Federal do Tocantins. **Bioscience Journal**, v.27, n.3, p.392-403, 2011.

COIMBRA, R. R.; MIRANDA, G. V.; CRUZ, S. D.; MELO, A. V. M.; ECKERT, F. R. Caracterização e divergência genética de populações de milho resgatadas do Sudeste de Minas Gerais. **Revista Ciência Agrônômica**, v.41, p.159-166, 2010.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Brasília: CONAB, v.6, n.9, 2019. 113p.

CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Suprema: Visconde do Rio Branco, 2011. 620p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2014. 668

DUBREUIL, V.; FANTE, K.P.; PLANCHON, O.; SANT'ANNA NETO, J.L. Les types de climats annuels au Brésil: une application de la classification de Köppen de 1961 à 2015. **EchoGéo**, v. 41, p. 1-27, 2017

DOTTO, M. A.; AFFÉRI, F. S.; PELUZIO, J. M.; VAZ DE MELO, A.; CARVALHO, E. V. D. Divergência genética entre cultivares comerciais de milho em baixas altitudes no Tocantins, safra 2007/2008. **Revista Ciência Agronômica**, v.41, n.4, 2010.

FU, D.; XIAO, M.; HAYWARD, A.; FU, Y.; LIU, G.; JIANG, G.; ZHANG, H. Utilization of crop heterosis: a review. **Euphytica**, v.197, n.2, p.161-173, 2014.

GALVÃO, J.C.C.; BORÉM, A.; PIMENTEL, M.A. **Milho do plantio à Colheita**. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2017. 382p.

GIRAUD, H.; BAULAND, C.; FALQUE, M.; MADUR, D.; COMBES, V.; JAMIN, P.; MONTEIL, C.; LABORDE, J.; PALAFFRE, C.; GAILLARD, A.; BLANCHARD, P.; CHARCOSSET, A.; MOREAU, L. Reciprocal Genetics: Identifying QTLs for general and specific combining abilities in hybrids 2 between multiparental populations from two maize (*Zea mays* L.) heterotic groups. **Genetics**, v.207, n.3, p.1167-1180, 2017.

MAHALANOBIS, P. C. On the generalized distance in statistics. **Proceedings of the National Institute of Sciences of India**, v.2, p.49-55, 1936.

OLIVEIRA, M. D. S. P.; FERREIRA, D. F.; SANTOS, J. B. Seleção de descritores para caracterização de germoplasma de açaizeiro para produção de frutos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.7, p.1133-1140, 2006.

PAIXÃO, S. L.; CAVALCANTE, M.; FERREIRA, P. V.; MADALENA, J. A. S.; PEREIRA, R. G. Divergência genética e avaliação de populações de milho em diferentes ambientes no estado de Alagoas. **Revista Caatinga**, v.21, n.4, p.191-195, 2008.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística experimental**. 15. ed. Piracicaba: FEALQ, 2009. 451p.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B.; SOUZA, E. A.; GONÇALVES, F. M. A.; SOUZA, J. C. **Genética na agropecuária**. 5. Ed. Lavras: UFLA, 2012.

RAO, R. C. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York: J. Wiley, 1952. 330 p

ROTILI, E. A.; CANCELLIER, L. L.; DOTTO, M. A.; PELUZIO, J. M.; CARVALHO, E. V. Divergência genética em genótipos de milho, no estado do Tocantins. **Revista Ciência Agronômica**, v.43, p.516-521, 2012.

SANTOS, H.G.; JACOMINE, P.K.T.; ANJOS, L.H.C.; OLIVEIRA, V.A.; LUMBRERAS, J.F.; COELHO, M.R.; ALMEIDA, J.A.; ARAUJO FILHO, J.C.; OLIVEIRA, J.B.; CUNHA, T.J.F. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2018. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/181677/1/SiBCS-2018-ISBN-9788570358172.epub>>. Acesso em: 03 jul. 2019.

- SANTOS, W. F.; AFFÉRRI, F. S.; PELÚZIO, J. M. Eficiência ao uso do nitrogênio e biodiversidade em genótipos de milho para teor de óleo. **Enciclopédia Biosfera**, v.11, n.21, p.2916-2925, 2015.
- SANTOS, W. F.; MACIEL, L. C.; SODRÉ, L. F.; SILVA, R. M.; AFFÉRRI, F. S.; FREITAS, J. H.; PEREIRA, J. S. Diversidade genética em genótipos de milho para baixo nível tecnológico em Gurupi, TO. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.11, n.2, p.21-24, 2017.
- SANTOS, W. F.; PELÚZIO, J. M.; AFFÉRRI, F. S.; SODRÉ, L. F.; SANTOS, D. S.; FARIAS, T. C. M. Variabilidade genética e eficiência de uso do nitrogênio em genótipos de milho para teor de óleo. **Revista Ciência Agrárias**, v.57, n.3, p.312-317, 2014.
- SILVA, D. F. G.; COELHO, C. J.; ROMANEK, C.; GARDINGO, J. R.; SILVA, A. R.; GRACZYKI, B. L.; OLIVEIRA, E. A. T.; MATIELLO, R. R. Dissimilaridade genética e definição de grupos de recombinação em progênies de meios-irmãos de milho-verde. **Bragantia**, v.75, n.4, p.401-410, 2016.
- SIMON, G. A.; KAMADA, T.; MOITEIRO, M. Divergência genética em milho de primeira e segunda safra. **Semina**, v.33, n.2, p.449-458, 2012.
- SIMON, J.; COSTA, R. V.; ALMEIDA, R. E. M.; CAMPOS, L. J. M.; LAGO, B. C.; FERREIRA, L. L.; LOPES, E. R.; DINIZ FILHO, R. **Época de plantio e cultivares de milho safrinha no Tocantins**. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2016.
- SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **The Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, v.41, p.237-245, 1981.

DESEMPENHO AGRONÔMICO E DIVERGÊNCIA GENÉTICA EM MILHO NO ECÓTONO CERRADO-AMAZÔNIA

Rafael Marcelino da Silva

Universidade Federal do Tocantins (UFT),
Agronomia
Gurupi – TO

Weder Ferreira dos Santos

Universidade Federal do Tocantins (UFT),
Professor, Engenharia de Bioprocessos e
Biotecnologia
Gurupi – TO

Layanni Ferreira Sodré

Universidade Federal do Tocantins (UFT), Pós-
Graduação em Agroenergia
Gurupi – TO

Adriano Silveira Barbosa

Universidade Federal do Tocantins (UFT), Pós-
Graduação em Produção Vegetal
Gurupi – TO

Laina Pires Rosa

Universidade Federal do Tocantins (UFT), Pós-
Graduação em Biotecnologia
Gurupi – TO

Lucas Carneiro Maciel

Universidade Federal do Tocantins (UFT),
Agronomia
Gurupi – TO

Igor Morais dos Reis

Universidade Federal do Tocantins (UFT),
Agronomia
Gurupi – TO

Eduardo Tranqueira da Silva

Universidade Federal do Tocantins (UFT),
Agronomia
Gurupi – TO

Matheus Rodrigues de Andrade

Universidade Federal do Tocantins (UFT),
Engenharia Florestal
Gurupi – TO

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi estudar o desempenho agronômico e divergência genética em milho no ecótono Cerrado-Amazônia. Os ensaios foram conduzidos na safra 2017/18 em uma propriedade no estado do Pará. O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados com nove tratamentos e três repetições, onde os tratamentos são representados por nove cultivares de milho. As características para avaliar o desempenho agronômico e a divergência genética foram: altura da espiga (cm), altura da planta (cm), comprimento da espiga (cm), diâmetro da espiga (mm), número de fileiras, número de grãos por fileira e produtividade de grãos (kg ha⁻¹). Os cultivares foram separados em modelo multivariado, em cinco grupos, utilizando o método de otimização de Tocher. O cultivar AG 1051 apresentou o melhor desempenho agronômico. Os resultados de divergência genética foram de acordo à distância generalizada de Mahalanobis (D²), sendo as combinações AG 8088 x CATIVERDE e AG 1051 x AL BANDEIRANTE, as mais promissoras para futuros cruzamentos.

PALAVRAS-CHAVE: nitrogênio, produtividade, variabilidade, *Zea mays*.

AGRONOMIC PERFORMANCE AND GENETIC DIVERGENCE IN CORN IN THE CERRADO-AMAZÔNIA ECOTON

ABSTRACT: The objective of this work is to study the agronomic performance and genetic divergence in corn in the Cerrado-Amazônia ecotone. The trials were conducted in the 2017/18 harvest at a property in the state of Pará. The experimental design was a randomized block with nine treatments and three replications, where the treatments are represented by nine cultivars of corn. The characteristics to evaluate agronomic performance and genetic divergence were: ear height (cm), plant height (cm), ear length (cm), ear diameter (mm), number of rows, number of grains per row and grain yield (kg ha⁻¹). The cultivars were separated into a multivariate model in five groups using the Tocher optimization method. The cultivar AG 1051 showed the best agronomic performance. The results of genetic divergence were according to the generalized distance of Mahalanobis (D^2), with the commences AG 8088 x CATIVERDE and AG 1051 x AL BANDEIRANTE, the most promising for future crosses.

KEYWORDS: nitrogen, productivity, variability, *Zea mays*.

1 | INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) tem extrema importância para a economia mundial, e é produzido em todo o território brasileiro (SILVA et al., 2015). Pode ser consumido in natura ou utilizado na indústria alimentícia como matéria prima de uma gama de produtos, mas a maior parte da produção é destinada à alimentação animal, destacado por ser uma importante fonte energética nas rações (GARCIA et al., 2006).

Com o aumento da população mundial, há a necessidade de se aumentar o rebanho e a demanda pelo milho também irá crescer. Para atender essa demanda um dos desafios é o aumento da produção com expansão mínima na área cultivada, logo é necessário haver incremento na produtividade do milho (MARIN et al., 2016).

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB (2019), na safra 2018/19, o estado do Pará atingiu uma produtividade de 3.055 kg ha⁻¹, inferior à média total nacional de 5.605 kg ha⁻¹. Essa baixa produtividade pode ser resultado das elevadas temperaturas, do baixo nível tecnológico empregado e da falta de seleção de cultivares adaptadas à região (SANTOS et al., 2014).

O ecótono Cerrado-Amazônia é uma zona de transição entre os biomas Cerrado e Amazônia e ocupa uma área de aproximadamente 41,4 milhões de hectares, uma parte do Pará, especificamente a região sul, está localizada dentro dessa área (KARK; RENSBURG, 2006). Essa zona de transição contém um pouco das características desses dois ecossistemas (RICKLEFS, 2009). Para altas produtividade do milho nesse ecótono é necessário a utilização de cultivares para essas condições ambientais (ALVES et al., 2006).

A produtividade de uma cultura está relacionada 60% a fatores genéticos e 40% a fatores ambientais, podendo-se destacar os elementos climáticos, a disponibilidade hídrica e a fertilidade do solo (RESENDE et al., 2003). Dentre os nutrientes essenciais para as plantas, o nitrogênio (N), destaca-se por ser o mais exigido pela cultura, sendo responsável pelo crescimento vegetativo e influencia diretamente na produtividade de grãos (MALAVOLTA et al., 2002).

Seguindo o raciocínio da seleção de materiais promissores para a região de interesse, os estudos de divergência genética são essenciais para o conhecimento da divergência genética existente nos bancos de germoplasmas, possibilitando o monitoramento, auxiliando na identificação de possíveis duplicatas e fornecendo parâmetros para escolha de progenitores, que ao serem cruzados, possibilitem maior efeito heterótico, aumentando as chances de obtenção de genótipos superiores em gerações segregantes (CRUZ et al., 2014).

O desempenho agrônômico na cultura do milho têm sido estudado por diversos autores (ARAÚJO et al., 2016; PETTER et al., 2016; SANTOS et al., 2017; SERAGUZI et al., 2016; VALADARES et al., 2017) e a divergência genética também (SANTOS et al., 2014; SANTOS et al., 2015; SILVA et al., 2015; SODRE et al., 2017; SANTOS et al., 2018), porém são poucos os trabalhos desenvolvidos na região Norte do país, mais especificamente na zona de transição Cerrado-Amazônia. Diante do exposto, o presente trabalho tem como objetivo estudar o desempenho agrônômico e divergência genética em milho no ecótono Cerrado-Amazônia.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

No ano de 2018 foram conduzidos dois ensaios no Sítio Vitória, localizado (8°18'32" S, 50°36'58" W) no município de Santa Maria das Barreiras, estado do Pará, região do ecótono entre a Amazônia e o Cerrado. O clima da região é do tipo Aw segundo a classificação de Köppen, o que indica clima tropical com estação seca no inverno (DUBREUIL et al., 2017).

Foram instalados dois ensaios de competição de cultivares de milho, sendo um instalado sob baixo nitrogênio, com 0 kg ha⁻¹ de N em cobertura, e um sob alto nitrogênio, com 120 kg ha⁻¹ de N em cobertura. Essas doses foram determinadas pela menor e maior produtividade esperada para a cultura do milho (RIBEIRO et al., 1999).

O delineamento experimental utilizado em cada ensaio foi o de blocos casualizados com nove tratamentos e três repetições. Os tratamentos foram seis híbridos de milho: PR27D28, 2B655PW, AG1051, AG8088, BR206 e BRS3046; e três PPA (população de polinização aberta): AL BANDEIRANTE, ANHEMBI e CATIVERDE.

A parcela experimental utilizada foi composta por quatro fileiras de 5,0 m, espaçadas 0,9 m entre linhas. A área útil da parcela foi apenas as duas fileiras centrais, descartando-se 0,5 m das extremidades destas fileiras. Totalizando uma

área de 972 m².

O preparo de solo foi realizado com uma grade aradora seguida da utilização de uma grade niveladora. A adubação de base foi efetuada manualmente, utilizando 300 kg ha⁻¹ de N-P₂O₅-K₂O, formulação 5-25-15 + 0.5% Zn.

A semeadura foi realizada em janeiro de 2018, de forma manual em sulco com uma profundidade média de 0,04 m. Após a emergência realizou-se o desbaste deixando um espaçamento de 0,2 m entre plantas, obtendo-se uma população de 55.555 plantas ha⁻¹.

A adubação de cobertura foi realizada com um 120 kg ha⁻¹ de N no ensaio alto N. A fonte utilizada foi a ureia (45% de N), totalizando 266 kg ha⁻¹ de ureia, sendo parcelada em duas aplicações nos estádios: V4 e V8 (4 e 8 folhas completamente abertas, respectivamente).

Os tratos culturais, para controle de plantas infestantes, doenças e pragas foram realizados de acordo com as recomendações técnicas da cultura (BORÉM et al., 2015).

A colheita foi realizada quando as plantas atingiram o estágio de maturidade fisiológica (R6). Foram colhidas todas as espigas da área útil da parcela, e feitas aferições, com a utilização de uma régua, de comprimento da espiga (CE), com o uso do paquímetro, o diâmetro da espiga (DE), número de fileiras por espiga (NF) e número de grãos por fileira (NGF). Depois as espigas foram trilhadas e os grãos de cada parcela acondicionados em um saco de papel, o qual foi identificado por tratamento e bloco. Foi realizada a determinação da produtividade por parcela, corrigida para 13% de umidade e extrapolada para hectare. A altura de planta (AP) e altura de espiga (AE) foi mensurada no estágio R6 com uso de trena métrica, tomando a distância do nível do solo até a última folha totalmente aberta, e até a inserção da espiga, respectivamente. Os descritores das características foram utilizados conforme a EMBRAPA (2010).

Para o estudo da divergência genética foram utilizadas no modelo multivariado as seguintes variáveis: altura de planta (cm), altura de espiga (cm), comprimento de espiga (mm), diâmetro de espiga (mm), número de fileiras por espiga, número de grãos por fileira e produtividade de grãos (kg ha⁻¹).

As medidas de dissimilaridades foram determinadas segundo o modelo de análise multivariada, o que permitiu a obtenção das matrizes de dissimilaridades, covariâncias residuais e das médias das populações. Foi aplicado o método de agrupamento de Tocher (RAO, 1952), utilizando a distância generalizada de Mahalanobis (D²) (MAHALANOBIS, 1936), e o critério de Singh (1981) para quantificar a contribuição relativa das sete características.

As análises estatísticas foram a análise de variância (Teste F; p<0,05) e para a análise do desempenho agrônomo foi utilizado o teste de comparação múltipla de médias de Scott-Knott (p<0,05), realizadas utilizando o programa Genes (CRUZ, 2007).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Desempenho Agrônômico

Na análise de variância (Tabela 1) os coeficientes de variação das características foram de: 3,60% para altura da espiga, 2,56% para altura de plantas, 4,12% para comprimento da espiga, 2,12% para diâmetro da espiga, 3,28% para número de fileiras por espiga, 3,97% para número de grãos por fileira e 6,17% para produtividade. Esses dados fazem com que o experimento seja classificado como de alta precisão experimental, devido à categorização do coeficiente de variação como baixo (PIMENTEL-GOMES, 2009).

Cultivares	AE*	AP	CE	DE	NF	NGF	PROD
PR27D28	121 a	209 b	18,68 a	50,32 b	14,8 b	31 c	7.468 b
2B655PW	85 d	203 c	19,18 a	50,48 b	15,7 a	32 c	7.467 b
AG 1051	127 a	217 a	19,45 a	52,23 a	15,3 a	38 a	8.325 a
AG 8088	79 e	193 d	19,43 a	53,72 a	16,3 a	34 b	8.139 a
AL BANDEIRANTE	94 c	197 c	16,68 b	45,13 d	15,2 b	30 c	5.317 c
ANHEMBI	93 c	207 b	19,03 a	47,30 c	14,8 b	30 c	5.761 c
BR 206	106 b	200 c	18,92 a	50,72 b	14,8 b	35 b	8.029 a
BRS 3046	90 c	193 d	18,73 a	53,03 a	15,7 a	35 b	8.261 a
CATIVERDE	123 a	218 a	17,13 b	45,30 d	14,0 c	29 c	5.919 c
Média	102	204	18,58	49,80	15,2	33	7.187
CV %	3,60	2,56	4,12	2,12	3,28	3,97	6,17

Tabela 1. Resumo da análise de variância da característica de altura da espiga em cm (AE), altura da planta em cm (AP), comprimento da espiga em cm (CE) e diâmetro da espiga em mm (DE), número de fileiras (NF), número de grãos por fileira (NGF) e produtividade de grãos em kg ha⁻¹ (PROD), de 9 cultivares de milho.

Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna pertencem a um mesmo grupo, pelo critério de agrupamento de Scott & Knott (1974), a 5% de significância.

Dentre os caracteres, todos apresentaram diferença significativa entre os cultivares, assim foram agrupados em diferentes grupos de média pelo teste de Scott-Knott ($p < 0.05$).

A média da AE foi de 102 cm, variando de 127 cm (AG 1051) a 79 cm (AG 8088) e foram separados cinco diferentes grupos de médias. O grupo com as maiores médias composto pelos cultivares AG 1051 (127 cm), CATIVERDE (123 cm) e PR27D28 (121 cm), apenas AG 8088 está inserido no grupo com as menores médias, com 79 cm para esta característica. Uma elevada altura da inserção da espiga é algo indesejável, pois além de influenciar na quebra do colmo e tombamento (SOUSA; YUYAMA, 2015), também desfavorece o acúmulo de carboidratos nos grãos de milho, pois cerca de 50% desses carboidratos são provenientes das folhas do terço superior da planta (FORNASIERI FILHO, 2007).

A característica AP apresentou uma média de 204 cm, os valores variaram de

218 cm (CATIVERDE) a 193 cm (BRS 3046 e AG 8088), desmembrando os cultivares em quatro grupos de média. Assim como Alvarez et al. (2006), neste trabalho as plantas de maior altura coincidiram com as de maior altura de inserção da espiga (AG 1051 e CATIVERDE), demonstrando a correlação que existe entre essas duas características.

O CE variou de 19,45 cm (AG 1051) a 16,68 cm (AL BANDEIRANTE) distinguindo os nove cultivares em apenas dois grupos de média, sendo apenas os cultivares AL BANDEIRANTE e CATIVERDE classificados no grupo com as menores médias. E a média desse caractere foi de 18,58 cm. Esse resultado é superior ao encontrado por Quiessi et al. (1999), Bertolini et al. (2006); Sousa; Yuyama (2015), que encontraram valores de 18, 16,9 e 15, respectivamente.

Já os valores obtidos de DE foram agrupados em quatro grupos estatísticos, o grupo com as maiores médias composto pelos cultivares AG 1051 (52,23 mm), AG 8088 (53,72 mm) e BRS 3046 (53,03 mm) e no grupo com as menores médias os cultivares AL BANDEIRANTE (45,13 mm) e CATIVERDE (45,30 mm). E a média geral para essa característica foi de 49,80 mm.

Os cultivares AG 8088, BRS 3046, 2B655PW e AG 1051 obtiveram o maior número de fileiras por espiga, com 16,3, 15,7, 15,7 e 15,3 fileiras respectivamente. Enquanto que o cultivar CATIVERDE, com 14 fileiras foi o com o menor NF. E a média para esta característica foi de 15,2 fileiras por espiga. Esse resultado demonstra valores maiores que os encontrados por Sousa; Yuyama (2015) e Bertolini et al. (2006), que foram 14,6 e 14,67 fileiras, respectivamente.

Quanto ao NGF, os valores variaram de 38 (AG 1051) a 29 (CATIVERDE), enquanto que a média foi de 33 grãos por fileira. Balbinot Júnior et al. (2005) afirma que dentre as variáveis que determinam a produtividade do milho está o NF e NGF que caracterizam a quantidade de grãos formados em uma espiga.

Com relação à produtividade de grãos, os genótipos AG1051, BRS 3046, AG 8088 e BR 206 com médias de 8.325, 8.261, 8.139 e 8.029 kg ha⁻¹, respectivamente, formam o grupo com as maiores médias. Os resultados obtidos foram superiores à média de produtividade no Estado do Pará (CONAB, 2019), que foi de 3.055 kg ha⁻¹, e também a encontrada por Santos et al. (2017) e Souza et al. (2005), de 5.889 e 6.391 kg ha⁻¹, respectivamente.

3.2 Divergência Genética

A combinação entre os cultivares AG 8088 x CATIVERDE (Tabela 2) foi considerada a mais divergente ($D^2 = 270,61$), seguida por AG 1051 x ALBANDEIRANTE ($D^2 = 230,45$). As menores distâncias foram entre as combinações AG 8088 x BRS 3046 ($D^2 = 11,78$) e 2B655PW x BRS 3046 ($D^2 = 19,88$).

Genótipo	Maior distância		Menor distância	
PR27D28	156,84	(AG 8088)	33,09	(BR 206)
2B655PW	159,67	(CATIVERDE)	19,88	(BRS 3046)
AG 1051	230,45	(AL ANDEIRANTE)	38,91	(PR27D28)
AG 8088	270,61	(CATIVERDE)	11,78	(BRS 3046)
AL BANDEIRANTE	230,45	(AG 1051)	25,54	(ANHEMI)
ANHEMI	182,94	(AG 1051)	25,54	(AL BANDEIRANTE)
BR 206	97,14	(CATIVERDE)	25,94	(BRS 3046)
BRS 3046	198,09	(CATIVERDE)	11,78	(AG 8088)
CATIVERDE	270,61	(AG 8088)	42,12	(PR27D28)
Maior distância	270,61		(AG 8088 e CATIVERDE)	
Menor distância	11,78		(AG 8088 e BRS 3046)	

Tabela 2. Estimativa das distâncias de Mahalanobis (D^2) máxima e mínima de cultivares de milho.

Observa-se que maiores distâncias representam materiais que provavelmente vieram de bancos de germoplasma distintos, e menores distâncias, os materiais que provavelmente são do mesmo banco de germoplasma. Dessa maneira, a análise da distância genética entre os materiais leva a uma maior rapidez, menor uso de mão-de-obra e recursos financeiros que serão utilizados nos programas futuros de melhoramento da cultura do milho, pois permite avaliar materiais distintos e promissores para inserir em programas de melhoramento (SIMON et al., 2012; SANTOS et al., 2017).

Segundo Ramalho et al. (2012), para se alcançar, o tão almejado, máximo nível de heterose é necessário fazer combinações entre materiais que são complementares, ou seja, no loco onde houver alelos recessivos em um material, no outro o alelo deve ser dominante e vice-versa, gerando assim um maior grau de heterose.

A análise de agrupamento pelo método de Tocher separa os materiais em grupos distintos, para que haja homogeneidade intragrupo e heterogeneidade intergrupo (CRUZ et al., 2014). Após obtidas as medidas de dissimilaridade (D^2) os cultivares são agrupados em cinco grupos (Tabela 3).

Grupo	Acessos
I	2B655PW, AG 8088 e BRS 3046
II	AL ANDEIRANTE e ANHEMI
III	PR27D28 e BR 206
IV	AG 1051
V	CATIVERDE

Tabela 3. Agrupamento de nove cultivares de milho pelo método de Tocher (RAO, 1952), com base na distância generalizada de Mahalanobis.

O primeiro grande grupo separado pelo método de Tocher é composto por três

cultivares (2B655PW, AG 8088 e BRS 3046), o segundo por dois (AL BANDEIRANTE e ANHEMBI), o terceiro grupo também é formado por dois cultivares (PR27D28 e BR 206), enquanto que o quarto (AG 1051) e o quinto (CATIVERDE) grupo são formados por apenas um genótipo cada. Grupos que são formados apenas por um material indica que este seja divergente em relação aos demais, facilitando a prospecção dos trabalhos em programas de melhoramento (ROTILI et al., 2012)

Também através do método de otimização de Tocher, são obtidas as distâncias médias intergrupos (Tabela 3), detalhando mais afundo quais os grupos que mais divergem entrem si.

Grupos	II	III	IV	V
I	89,45	80,85	158,38	209,46
II		88,39	206,70	87,32
III			48,42	69,63
IV				118,69

Tabela 4. Distâncias médias entre os grupos formados pela análise de divergência genética em nove cultivares de milho.

As menores distâncias obtidas entre os grupos foram entre III e IV (48,42) e III e V (69,63). Por outro lado, as maiores distâncias obtidas foram entre os grupos I e V (209,46) e II e IV (206,70), indicando os grupos mais divergentes. Esses altos valores representados na Tabela 4 ressaltam a divergência entre as cultivares de grupos distintos (SANTOS et al., 2017).

Grupos divergentes podem ser utilizados como base para se desenvolverem linhagens que servirão como futuros cruzamentos híbridos, visto que estes necessitam de locos complementares (BERNINI et al., 2013).

Das sete características avaliadas na Tabela 5, a que mais contribuiu para a divergência foi a AE (47,69%), seguido pelo DE (18,66%) e as menores contribuições foram do NF (2,26%) e CE (1,85%). Portanto, as características do NF e CE podem ser descartadas das avaliações futuras, pois contribuem pouco para discriminar os materiais avaliados, podendo então, reduzir tempo, mão-de-obra e custos nos programas de melhoramento (ROTILI et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2006).

Variável	Contribuição (%)
AE	47,69
AP	7,83
CE	1,85
DE	18,66
NF	2,26
NGF	8,40
PROD	13,31

Tabela 5. Contribuição relativa dos caracteres de nove cultivares de milho, para a diversidade através da distância generalizada de Mahalanobis, seguindo o critério de Singh (1981).

4 | CONCLUSÕES

1. As combinações entre os genótipos P13 x P17 e P9 x P17, são promissoras para obtenção de híbridos superiores.

3. As características que mais contribuíram para divergência genética foram: rendimento de grãos, altura de espiga e diâmetro da espiga.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ, C. G. D.; VON PINHO, R. G.; BORGES, I. D. Avaliação de características agrônômicas e de produção de forragem e grãos de milho em diferentes densidades de semeadura e espaçamentos entre linhas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 3, p. 402-408. 2006.

ALVES, S.J.; TOLEDO, J.F.F.; ARAÚJO, P.M.; GARBUGLIO, D.D. Comportamento de diferentes classes genéticas de milho quanto à adaptabilidade e estabilidade. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.5, n.2, p.291-303, 2006.

ARAÚJO, L. S. I.; SILVA, L. G. B.; SILVEIRA, P. E. M; RODRIGUES, F.; LIMA, M. L. P.; CUNHA, P. C. R. Desempenho agrônômico de híbridos de milho na região sudeste de Goiás. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 10, n. 4, p. 334-341, 2016.

BALBINOT JÚNIOR, A. A.; BACKES, R. L.; ALVES, A. C.; OGLIARI, J. B.; FONSECA, J. A. Contribuição de componentes de rendimento na produtividade de grãos em variedades de polinização aberta de milho. **Revista Brasileira Agrocências**, Pelotas, v. 11, n. 2, p. 161-166. 2005.

BERNINI, C. S.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; GUIMARÃES, P. S.; ROVARIS, S. R. S.; DUARTE, A. P.; GALLO, P. B. Depressão endogâmica e heterose de híbridos de populações F2 de milho no estado de São Paulo. **Bragantia**, Campinas, v. 72, n. 3, p. 217-223, 2013.

BERTOLINI, E. V. Desempenho da cultura do milho em diferentes manejos do solo e cobertura vegetal de Naboça (*Raphanus raphanistrum* L.). **Energia na agricultura**, Botucatu, v. 21, n. 1, p. 34-49. 2006.

BORÉM, A.; GALVÃO, J. C. C.; PIMENTEL, M. A. **Milho: do plantio à colheita**. Viçosa: Editora UFV, 2015.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos: nono levantamento**. 2019. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 11 jun. 2019.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2014.

CRUZ, C.D. **Programa Genes**: Aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 2007.

DUBREUIL, V.; FANTE, K.P.; PLANCHON, O.; SANT'ANNA NETO, J.L. Les types de climats annuels au Brésil: une application de la classification de Köppen de 1961 à 2015. **EchoGéo**, v. 41, p. 1-27, 2017.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Caracterização de recursos genéticos de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do milho**. Jaboticabal: Funep, 2007.

GARCIA, J. C.; MATTOSO, M. J.; DUARTE, J. O.; CRUZ, J. C. **Aspectos Econômicos da Produção**

e **Utilização do Milho**. Sete lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006.

KARK, S.; RENSBURG, B. J. V. Ecotones: Marginal or central areas of transition? **Israel Journal of Ecology & Evolution**, v. 52, p. 29-53, 2006.

MAHALANOBIS, P. C. On the generalized distance in statistics. **Proceedings of the National Institute of Sciences of India**, v.2, p.49-55, 1936.

MALAVOLTA E.; PIMENTEL-GOMES, F.; ALCARDE, J. C. **Adubos & Adubações**. Nobel, São Paulo, SP. 2002.

MARIN, F., PILAU, F., SPOLADOR, H., OTTO, R., PEDREIRA, C. Intensificação sustentável da agricultura brasileira: cenários para 2050. **Revista de Política Agrícola**, v. 25, n. 3, p. 108-124, 2016.

OLIVEIRA, M. D. S. P.; FERREIRA, D. F.; SANTOS, J. B. Seleção de descritores para caracterização de germoplasma de açaizeiro para produção de frutos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 7, p. 1133-1140, 2006.

PETTER, F. A.; ANDRADE, F. R.; ZUFFO, A. M.; MONTEIRO, M. M. S.; PACHECO, L. P.; ALMEIDA, F. A. Doses e épocas de aplicação de potássio no desempenho agrônômico do milho no cerrado piauiense. **Comunicata Scientiae**, v. 7, n. 3, p. 372-382, 2016.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística experimental**. 15. ed. Piracicaba: FEALQ, 2009.

QUIESSI, J.A.; DUARTE, A. P.; BICUDO, S. J.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z. Rendimento de grãos e características fenológicas do milho em diferentes épocas de semeadura, em Tarumá, SP. In: **Seminário sobre a cultura do milho Safrinha**, 1999, Barretos. Anais. Campinas, 1999. p. 239-247.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B.; SOUZA, E. A.; GONÇALVES, F. M. A.; SOUZA, J. C. **Genética na agropecuária**. 5. Ed. Lavras: UFLA, 2012.

RAO, R. C. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York: J. Wiley, 1952.

RESENDE, M; ALBUQUERQUE, P. E. P.; COUTO, L. **A cultura do milho irrigado**. Brasília: Embrapa, 2003.

RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ, V.V.H. **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação**. Viçosa: UFV, 1999.

RICKLEFS, R. E. **A Economia da Natureza**. 5. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2009.

ROTILI, E. A.; CANCELLIER, L. L.; DOTTO, M. A.; CARVALHO, E. V.; PELÚZIO, J. M. Divergência genética em genótipos de milho, no Estado do Tocantins. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 3, p. 516-521, 2012.

SANTOS, W. F.; AFFÉRRI, F. S.; PELUZIO, J. M. Eficiência ao uso do nitrogênio e biodiversidade em genótipos de milho para teor de óleo. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, n. 21, p. 2916-2925, 2015.

SANTOS, W. F.; AFFÉRRI, F. S.; PELÚZIO, J. M.; SODRÉ, L. F.; ROTILI, E. A.; CERQUEIRA, F. B.; FERREIRA, T.P.S. Diversidade genética em milho sob condições de restrição ao nitrogênio. **Journal Bioenergy and Food Science**, v. 5, n. 2, p. 44-53, 2018.

SANTOS, W. F.; MACIEL, L. C.; SODRÉ, L. F.; SILVA, R. M.; AFFÉRRI, F. S.; FREITAS, J. H.; PEREIRA, J. S. Diversidade genética em genótipos de milho para baixo nível tecnológico em Gurupi, TO. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 11, n. 2, p. 21-24, 2017.

- SANTOS, W. F.; PELÚZIO, J. M.; AFFÉRRI, F. S.; SODRÉ, L. F.; SANTOS, D. S.; FARIAS, T. C. M. Variabilidade genética e eficiência de uso do nitrogênio em populações de milho para teor de óleo. **Revista de Ciência Agrárias**, Belém, v. 57, n. 3, p. 312-317, 2014.
- SANTOS, W. F.; SODRÉ, L.F.; PEREIRA, J. S.; PEREIRA, M. S.; FERREIRA, T. P. S.; CANGUSSU, A. S. R.; SOARES, L. B. Desempenho agrônomo em genótipos de milho. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 11, p. 19-22, 2017.
- SCOTT, A.; KNOTT, M. Cluster analysis method for grouping means in analysis of variance. **Biometrics**, v. 30, p. 507-512, set. 1974.
- SERAGUZI, E. F.; LIMA, A. N. R.; ANSELMO, J. L.; ALVAREZ, R. C. F. Desempenho de híbridos de milho na região de Chapadão do Sul, MS. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 10, n. 4, p. 12-14, 2016.
- SILVA, K. C. L.; SILVA, K. P.; CARVALHO, E. V.; ROTILI, E. A.; Afféri, F. S.; PELUZIO, J. M. Divergência genética de genótipos de milho com e sem adubação nitrogenada em cobertura. **Revista Agro@ambiente On-line**, Boa Vista, v. 9, n. 2, p. 102-110, 2015.
- SIMON, G. A.; KAMADA, T.; MOITEIRO, M. Divergência genética em milho de primeira e segunda safra. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 449-458, 2012.
- SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **The Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, v.41, p.237-245, 1981.
- SODRÉ, L. F.; SANTOS, W. F.; ASCÊNCIO, S. D.; PELUZIO, J. M.; SILVA, R. M.; REINA, E. Divergência genética em milho para baixo e alto nitrogênio visando à produção de óleo e proteína. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, Recife, v. 22, n. 1, p. 1-7, 2017.
- SOUSA, A. L. B. de.; YUYAMA, K.; Desempenho agrônomo de cultivares de milho com adubação nitrogenada em cobertura no cerrado de Humaitá, AM. **Revista de Educação, Ciência e Tecnologia do IFAM**, Igápo, v. 9, n 2, p. 27-38, 2015.
- SOUZA, F. R. S. de; VELOSO, C. A. C.; EL HUSNY, J. C.; CARVALHO, E. J. M.; CORRÊA, J. R. V. **Avaliação de cultivares de milho nas regiões Nordeste, Oeste e Baixo Tocantins no Estado do Pará**. Belém. Embrapa: Amazônia Oriental, 2005.
- VALADARES, F. V.; SILVA, L. O. E.; ALMEIDA, R. N.; NETO, J. D. S.; BERILLI, A. P. C. G.; MOULIN, M. M. Desempenho agrônomo de irmãos completos de milho. **Revista Univap**, v.22, n. 40, p. 450, 2017.

SELEÇÃO DE HÍBRIDOS DE MILHO SUMETIDOS A DEFICIT HÍDRICO NO ESTÁGIO V4

Luiz Augusto Salles Das Neves

Universidade Federal de Santa Maria,
Departamento de Biologia, Centro de Ciências
Naturais e Exatas – Santa Maria – Rio Grande do
Sul

Kelen Haygert Lencina

Universidade Federal de Santa Maria,
Departamento de Biologia, Centro de Ciências
Naturais e Exatas – Santa Maria – Rio Grande do
Sul

Raquel Stefanello

Universidade Federal de Santa Maria,
Departamento de Biologia, Centro de Ciências
Naturais e Exatas – Santa Maria – Rio Grande do
Sul

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento de dois híbridos de milho o Balu e Down, submetidos a diferentes estresses hídricos até o estágio desenvolvimento V4. O experimento foi realizado no Departamento de Biologia da UFSM, no município de Santa Maria, RS, em casa de vegetação. O delineamento utilizado foi de blocos ao acaso. Os dados obtidos foram submetidos ao teste estatístico e as médias submetidas ao teste Tukey a 5%, que avaliou características morfológicas de altura de plantas, peso seco de raiz e parte aérea, em quatro tratamentos: foram 825ml (capacidade de campo), 412ml (1/2 capacidade de campo), 206ml (1/4 capacidade de campo) e 103ml (1/8

capacidade de campo) de irrigação semanal. A deficiência hídrica em estágio V4 resultou que, quanto maior estresse, maior desenvolvimento de raízes, em sincronismo, reduziu a parte aérea, esses parâmetros apresentou que híbrido Down mostrou-se menos tolerante ao déficit hídrico, e o híbrido Balu mais responsivo ao desenvolvimento vegetativo em condições hídricas melhores.

PALAVRAS-CHAVE: Seleção de híbrido; Down, Balu, Estresse hídrico

SELECTION OF CORN HYBRIDS SUBMITTED TO WATER DEFICIT IN STAGE V4

ABSTRACT: The objective of this work was to evaluate the behavior of two maize hybrids, Balu and Down, submitted to different water stresses up to the V4 development stage. The experiment was carried out in the Department of Biology of UFSM, in the municipality of Santa Maria, RS, in a greenhouse. The experimental design was a randomized block design. The data were submitted to the statistical test and the averages were submitted to the Tukey 5% test, which evaluated morphological characteristics of plant height, root dry weight and aerial part, in four treatments: 825ml (field capacity), 412ml (1/2 field capacity), 206 ml (1/4 field capacity) and 103 ml (1/8 field capacity) of weekly irrigation.

The water deficit in the V4 stage resulted in the fact that the higher the stress, the greater root development, in synchronism, reduced the aerial part, these parameters showed that the Down hybrid showed to be less tolerant to the water deficit, and the Balu hybrid more responsive to the vegetative development in better water conditions. **KEYWORDS:** Selection of hybrids; Down; Balu, water stress

INTRODUÇÃO

O milho é uma das principais fontes de alimento e a segunda maior cultura de importância na produção agrícola no Brasil, sendo superado apenas pela soja, que lidera a produção de grãos no país. O milho tem seu crescimento/desenvolvimento dividido em vegetativo (V) e reprodutivo (R), sendo os estádios vegetativos subdivididos e designados numericamente como V1, V2, V3 até V(n), sendo n a última folha emitida antes do pendoamento (Vt) (MAGALHÃES; DURÃES, 2006). Assim, em V4, 50% das plantas presentes na área cultivada apresentam quatro folhas totalmente desdobradas e sistema radicular com desenvolvimento considerável de pêlos absorventes e ramificações diferenciadas (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000). Neste estágio de desenvolvimento do milho, o sistema radicular é dependente do suprimento de carboidrato acumulados na parte aérea, que, por sua vez, depende da absorção de água, da interceptação da radiação e da assimilação de dióxido de carbono.

Quanto a disponibilidade de água, uma lavoura de milho requer em torno de 600 mm de água para absorção durante seu ciclo de crescimento, sendo imprescindível para múltiplas reações fisiológicas e praticamente todos os processos metabólicos. Assim, deficiências hídricas iniciais podem comprometer o processo germinativo, afetando o estabelecimento da cultura e adiando o desenvolvimento reprodutivo das plantas (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000). Apenas dois dias em estresse hídrico pode acarretar em redução no rendimento de grãos em mais de 20% (MAGALHÃES; DURÃES, 2006).

Segundo Bergamaschi et al. (2006), durante o período vegetativo o déficit hídrico ocorre uma redução do crescimento do milho, devido ao decréscimo da área foliar e da biomassa. Existem evidências que apontam o sincronismo das raízes com a parte aérea, resultante das reações químicas nas raízes, decorrente do déficit hídrico (DAVIES; ZHANG, 1991). Para Kramer (1974), ocorre sincronismo de crescimento em plantas de milho, que consiste na relação positiva entre o crescimento da parte aérea e do sistema radicular, resultando no crescimento da planta. Assim, a relação entre as duas estruturas se modificam em função do estágio fenológico da planta e das condições de meio, em que condições favoráveis promovem o aumento dessa relação e as condições adversas induzem a sua redução (LOOMIS; WILLIAMS, 1963; UHART; ANDRADE, 1995).

O estresse hídrico na agricultura tem sido um dos parâmetros de maior influência

para a produtividade e para o agronegócio (SHAO et al., 2008), causando diminuição da área foliar em função da desidratação sofrida pelas células (MORGAN, 1984). Para a cultura do milho, observa-se a curvatura ou enrolamento dos bordos das folhas para cima, ocasionada pelas linhas de células buliformes como defesa da exposição à radiação, por sua vez, diminuindo a área foliar. Durante o período de déficit hídrico também ocorre o fechamento dos estômatos em resposta a formação e liberação do ácido abscísico (ABA) das células do mesófilo foliar para o apoplasto foliar. (TAIZ; ZEIGER, 2011). Porém, nesse período não estão sendo formados os componentes do rendimento, em que os efeitos sobre a produção de grãos são atenuados posteriormente, se as condições hídricas se tornarem favoráveis, garantindo os níveis satisfatórios de rendimento de grãos.

As plantas sob uma condição adequadas de água são, normalmente, menos resistentes ao déficit hídrico, pois a planta necessita adaptar se rapidamente as condições morfofisiológicas, entretanto plantas que já sofrem com déficit hídrico gradualmente e/ou início do ciclo, estão mais adaptadas ao estresse hídrico e mais facilmente ocorre adaptação das plantas. Assim, o estresse pode ser considerado como um estado funcional ou como uma resposta dinâmica do organismo pela alteração do estado de equilíbrio, conduzindo o indivíduo a processos de resistência dos mecanismos homeostáticos, reestabelecendo as funções vitais da planta e, conseqüentemente, aumentando a resistência. A reação da planta em condições de estresse é uma situação de esforço para se adaptar aos processos letais prevalentes no protoplasma (LARCHER, 2000).

Embora os mecanismos fisiológicos que resultam nesse padrão de crescimento e desenvolvimento sejam poucos conhecidos, resultados satisfatórios têm sido obtidos em estudos no melhoramento do milho através da seleção de genótipos resistentes ao estresse hídrico (BANZIGER et al., 2002). Estudos que se referem à seleção de híbridos que suportam estresse hídrico têm que ser feitos, principalmente com vistas a constituírem populações que suportem mais tempo a falta de água no solo (LI et al., 2009), haja vista que o milho possui alta sensibilidade ao estresse hídrico. Estes estudos são especialmente importantes para os genótipos cultivados no Rio Grande do Sul devido as grandes oscilações de clima na época das safras de milho, principalmente em períodos críticos da cultura como o pendoamento e o enchimento de grãos (BERGONCI et al., 2001; BERGAMASCHI et al., 2004). Em vista disso, restrições são verificadas em diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul para o cultivo do milho (MATZENAUER et al., 2002), embora se observe que essa planta pode ser cultivada em qualquer região dos Estados do Sul.

A identificação de genótipos mais adaptados as diferentes condições ambientais podem ser utilizados em programas de melhoramento genético, buscando fornecer bons alelos para recombinação em processos de hibridização interespecífica. Além de estratégias de hibridização pela obtenção de linhagens, atualmente vem sendo utilizadas estratégias de seleção de linhagens em híbridos comerciais para utilização

em cruzamentos *topcrosses*, pois apresentam alta produtividade, bem como grande número de locos favoráveis já fixados (BOLSON et al., 2016). Assim, é possível que a identificação de híbridos mais estáveis às condições de déficit hídrico para a utilização como linhagens seja uma metodologia com potencial para os programas de melhoramento de milho.

Com base no exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar os caracteres altura de planta, a massa seca da raiz e da parte aérea de híbridos de milho em estágio vegetativo V4 submetidas a diferentes condições de estresse hídrico.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido em casa de vegetação do Departamento de Biologia do Centro de Ciências Naturais e Exatas (CCNE) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Foram utilizadas sementes de híbridos de milho denominados Balu e Down, obtidos na região de São Gabriel na safra 2015-2016. As sementes foram dispostas em vasos de 10 litros contendo terra de subsolo predominante na região para cultivos de sequeiro pertence à unidade São Pedro, e é classificada como Argissolo Vermelho Distrofíco Arênico.

Foram semeadas quatro sementes por vaso, e durante 15 dias foram submetidas a tratamentos de estresse de hídrico. A irrigação foi realizada semanalmente com diferentes volumes de água: 825ml (capacidade de campo), 412ml ($1/2$ capacidade de campo), 206ml ($1/4$ capacidade de campo) e 103ml ($1/8$ capacidade de campo). Após esse período de cultivo em casa de vegetação foi realizado desbaste, deixando as três melhores plantas por vaso. As plantas foram submetidas ao estresse hídrico na segunda semana, 14 dias sem irrigação, e posteriormente a irrigação voltou semanalmente até as plantas atingirem estágio V4.

Após atingirem estágio V4, com a emissão do quarto par de folhas, as plantas foram retiradas do vaso e lavadas cuidadosamente em água corrente. As plantas foram medidas quanto a sua altura total em centímetros com auxílio de uma trena, e posteriormente, as raízes foram separadas da parte aérea. Ambas as partes da planta foram acondicionadas em envelopes de papel e mantidas em estufa a 70°C até atingir peso constante. Após um período de uma semana, as porções das plantas foram pesadas em balança digital, obtendo-se o peso seco da parte aérea e o peso seco de raiz, em gramas.

O delineamento utilizado foi de blocos ao acaso com 10 repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ou análise de regressão e os tratamentos comparados pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os diferentes volumes de água testados influenciaram tanto o crescimento em altura, quanto peso seco da parte aérea e raiz das plantas de milho. Na figura 1 estão demonstrados os efeitos dos diferentes volumes na altura das plantas, onde se percebe que a redução da disponibilidade de água resultou em decréscimo proporcional da altura da parte aérea das plantas de milho de ambos os híbridos. Tanto para o híbrido Balu, quanto para o híbrido Down, o melhor ajuste se deu em uma equação linear de primeiro grau.

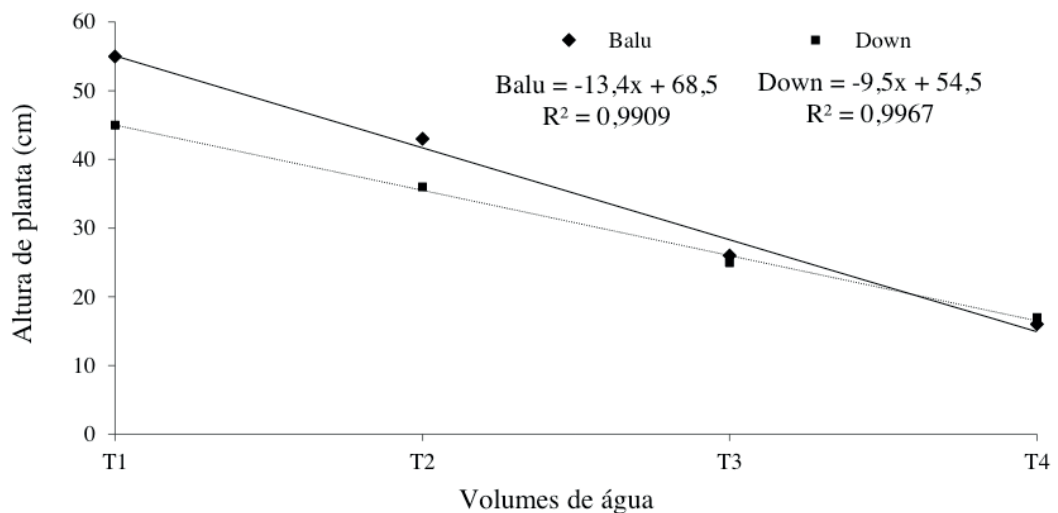


Figura 1 – Altura média das plantas dos híbridos Balu e Down nos diferentes tratamentos de estresse hídrico: T1 (825 mL), T2 (412 mL), T3 (206 mL) e T4 (103 mL). Santa Maria, RS, 2016.

Apesar dos híbridos não serem comparados, observa-se que de modo geral o híbrido Balu apresentou altura de planta superior ao híbrido Down nos tratamentos T1, T2 e T3. Já no tratamento T4, o híbrido Balu apresentou altura inferior ao híbrido Down, o que pode indicar a existência de uma maior interação entre esse genótipo com o ambiente, bem como de uma maior resistência do híbrido Down. Independente do híbrido é possível que a diferença em altura das plantas se devam ao estresse hídrico em milho afetar o comprimento dos internódios pela perda de turgidez das células em desenvolvimento, resultando redução da capacidade de armazenamento de carboidratos no colmo e menor peso de parte aérea de planta (FANCELLI, 1988). Além disso, o crescimento é mais sensível às condições de déficit hídrico que os processos fisiológicos, devido à redução da pressão de turgescência suprir a expansão e crescimento celular (SHAO et al. 2008).

Quanto ao peso seco da parte aérea e da raiz do híbrido Balu, observa-se que com o aumento do estresse hídrico ocorreu o declínio das variáveis (Figura 2). O tratamento T1, com a aplicação de maior volume de água nas plantas, resultou em maior peso seco de ambas as partes da planta, com diferença significativa para os demais tratamentos. Em contrapartida, os tratamentos T3 e T4 resultaram no menor peso seco da parte aérea e da raiz, mas sem diferirem significativamente entre si.

Essa resposta também era esperada, pois com o aumento do déficit hídrico também se espera redução do peso seco das raízes. Outro aspecto importante é que o déficit hídrico não afetou o peso da planta de forma linear como observado para altura da planta (Figura 1), indicando que outra tendência é observada para este caractere (Figura 2).

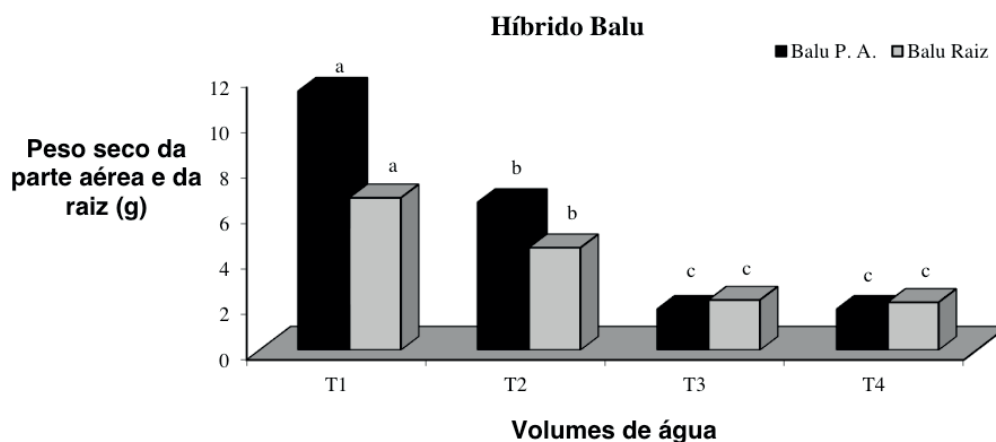


Figura 2 - Peso seco médio da parte aérea e da raiz do híbrido Balu, sob estresse hídrico nos tratamentos T1 (825 mL), T2 (412 mL), T3 (206 mL) e T4 (103 mL). Santa Maria, RS, 2016.

Na figura 3, estão demonstrados os pesos secos da parte aérea e da raiz do híbrido de milho Down. Para peso seco da parte aérea, o tratamento T1 diferiu dos demais tratamentos, enquanto para o peso seco da raiz, não houve diferença entre o T1, T3 e T4. Esse resultado mostra que aparentemente a raiz é menos influenciada pelo déficit hídrico que a parte aérea, o que possivelmente se deva ao fato do déficit hídrico estimular a expansão do sistema radicular para zonas mais profundas e úmidas do perfil do solo. Isso se deve ao crescimento das raízes principais e secundárias buscando manter o contato entre a sua superfície e do solo, o qual é essencial para a absorção efetiva de água (SANTOS; CARLESSO, 1998).

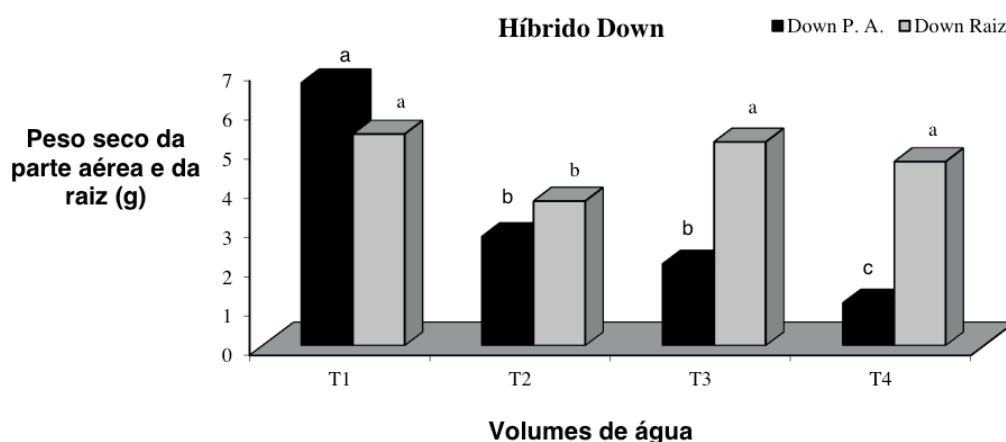


Figura 3 - Peso seco médio da parte aérea e raiz do híbrido Down, sob estresse hídrico nos tratamentos T1 (825 mL), T2 (412 mL), T3 (206 mL) e T4 (103 mL). Santa Maria, RS, 2016.

Na figura 4 foi realizada a comparação da parte aérea e das raízes de ambos

os híbridos Balu e Down usados no experimento. Observa-se que o híbrido Balu apresentou maior peso seco da parte aérea do que o híbrido Down. Porém, o peso seco de raiz foi maior o híbrido Down em relação ao Balu. Pode-se observar nesse caso que o híbrido Down mostrou-se mais resistente ao estresse hídrico do que o híbrido Balu, pois nesse híbrido a parte aérea resistiu mais a disponibilidade de água. Essa resposta pode refletir o mais rápido e melhor ajustamento osmótico que a planta faz diante da falta de água. Provavelmente, a restituição aos níveis normais de disponibilidade hídrica proporcione melhor resposta a recuperação das plantas.

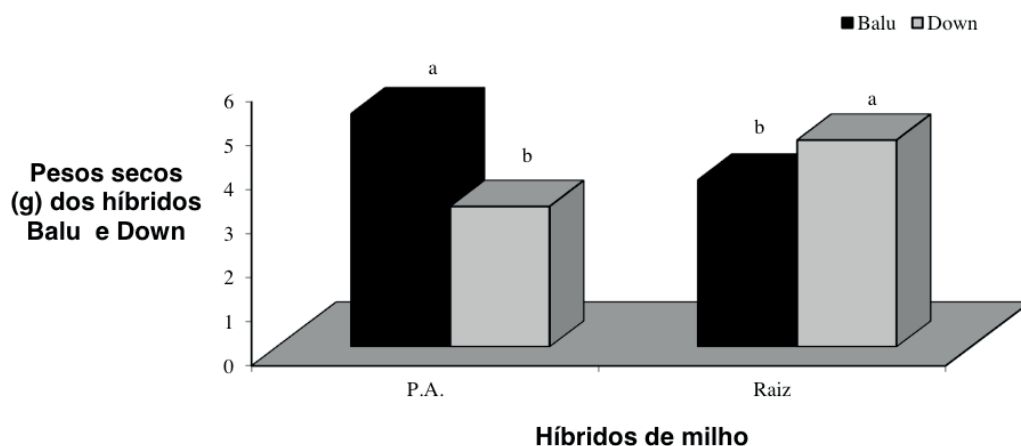


Figura 4 - Peso seco médio da parte aérea e raiz dos híbridos Balu e Down sob estresse hídrico nos tratamentos T1 (825 mL), T2 (412 mL), T3 (206 mL) e T4 (103 mL). Santa Maria, RS, 2016.

Segundo Taiz e Zeiger (2011), o déficit hídrico causa diminuição no crescimento, devido a redução na divisão celular e da área fotossinteticamente ativa, que por sua vez, interfere na produção de fotoassimilados e na produtividade. Não somente a falta de água, mas também a extensão da deficiência afetam a fotossíntese e o crescimento. Um estresse moderado prejudica a fotossíntese, inicialmente pela limitação estomática por causa do fornecimento de dióxido de carbono, e posteriormente, em uma condição mais severa inibe a fotossíntese devido à redução no volume da célula que contém cloroplasto, alterando o ciclo de Calvin. Esta redução interage com a velocidade de desenvolvimento do déficit hídrico, uma vez que taxas mais lentas permitirão o processo de aclimação. Esse processo de climatação, nada mais é que a capacidade, geneticamente determinada, da espécie em lidar com o meio ambiente (SANCHES 2012).

A identificação e a seleção de genótipos menos suscetíveis as variações de disponibilidade hídrica, ou ainda resistentes a tais variações é uma dos principais objetivos almejados em programas de melhoramento desta espécie. A identificação híbridos interespecíficos de genótipos testados com uma série de linhagens ou progênies tem disso uma estratégia muito utilizada no decorrer de décadas de melhoramento genético do milho (BOLSON et al., 2016). Ainda, a utilização de híbridos comerciais como fonte de novas linhagens, as quais são denominadas linhagens de

segundo ciclo, consiste em uma estratégia valiosa e que vem sendo aplicada por vários melhoristas, por apresentarem alta produtividade e grande proporção de locos favoráveis já fixados (BISON et al. 2003; BOLSON et al., 2016). Assim, estudos como estes auxiliam na identificação de genótipos potenciais para utilização em programas de melhoramento genético de milho, voltadas à recombinação e seleção de genótipos superiores.

CONCLUSÃO

Os caracteres altura de planta, massa seca da raiz e massa seca da parte aérea das plantas de milho são influenciados pelas condições de estresse hídrico. Tanto a altura da planta, quanto o peso seco da parte aérea apresentaram redução de crescimento proporcional à redução da disponibilidade hídrica. Em contrapartida, o peso seco da raiz foi menos influenciado pela quantidade de água disponível.

REFERÊNCIAS

BALL, R.A.; OOSTERHUIS, D.M.; MAUROMOUSTAKOS, A. Growth dynamics of the cotton plant during water-deficit stress. **Agronomy Journal**, Madison, v.86, p. 788-795, 1994.

BANZIGER, M.; EDMEADES, G. O.; LAFITTE, H. R. Physiological mechanisms contributing to the increased N stress tolerance of tropical maize selected for drought tolerance. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 75, p. 223-233, 2002.

BEGG, J.E.; TURNER, N.C Crop water deficits. **Advances in Agronomy**, v.28, p.161-217, 1976.

BERGAMASCHI, H.; DALMAGO, G.A.; COMIRAN, F., et al. Deficit hídrico e produtividade na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.2, p.243-249, 2006.

BERGAMASCHI, H.; DALMAGO, G.A.; BERGONCI, J.I.; BIANCHI, C.A.M.; MÜLLER, A.G.; COMIRAN, F.; HECKLER, B.M.M. Distribuição hídrica no período crítico do milho e produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.831-839, 2004.

BERGONCI, J.I.; BERGAMASCHI, H.; SANTOS, A.O.; FRANÇA, S.; RADIN, B. Eficiência da irrigação em rendimento de grãos e matéria seca de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, p.949-956, 2001.

BOYER, J.S. Water deficits and photosynthesis. In: KOZLOWSKI, T.T. **Water deficits and plant growth**. New York, Academic Press, 1976. v. 4.

CHAVES, M.M. Effects of water deficits on carbon assimilation. **Journal of Experimental Botany**, v.42, p.1-16, 1991.

DENMEAD, O.T.; SHAW, R.H. The effects of soil moisture stress at different stages of growth on the development and yield of corn. **Agronomy Journal**, Madison, v.52, p. 272- 274, 1960.

DAVIES, W.J.; ZHANG, J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in rying soil. **Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology**, Palo Alto, p.55-76, 1991.

FANCELLI, A. L. **Fenologia do milho**. Piracicaba: ESALQ/USP. 1988.

FANCELLI, A.L.; DOURADO-NETO, D, **Gerenciamento da cultura do milho**. Piracicaba: LPV; ESALQ/USP, Departamento de Produção Vegetal, 1999.

FANCELLI, A.L.; DOURADO-NETO, D. **Produção de milho**. Guaíba: Agropecuária, 2000. 360p.

LI, Y.; SPERRY, J. S.; SHAO, M.; Hydraulic conductance and vulnerability to cavitation in corn (*Zea mays* L.) hybrids of differing drought resistance. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 66, p. 341-346, 2009.

HOOGENBOOM, G.; HUCK, M.G.; PETERSON, C.M. Root growth rate of soybean as affected by drought stress. *Agronomy Journal*, Madison, v.79, p.697-614, 1987.

HSIAO, T.C. Plant responses to water stress. **Ann. Rev. Physiol**, 24:519-70, 1973.

MORGAN.J.M. Osmoregulation and water stress in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**, New York, v.35, p.299-319, 1984.

KRAMER, P.J Fifty years of progress in water reations research. **Plant Physiology**, Rockville, v.54, p.463-471, 1974.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima-Artes e Textos, 2000. 531p.

LEA, P.J.; AI-SULAIT, A.; PALMER, S.; DAVIE, W.J.Absorção e metabolismo de nitrogênio sobre estresse hídrico.In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE ESTRESSE AMBIENTAL: O MILHO EM PERSPECTIVA, 1995. Belo Horizonte, MG. **Anais...** EMBRAPA/CNPMS, 1995. v.1, p.163-194, 1995.

LOOMIS, R.S.; WILLIAMS, W.A. Maximum crop productivity: an estimate. **Crop Science**, Madison, v.3, n.1, p.67-72, 1963.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. Fisiologia da produção de Milho. Embrapa. Circular Técnica. Sete Lagoas, MG. 2006.

MANSFIELD, T.A.; McAINSH,M.R. Hormones as regulators of water balance. In: **Plants hormones: physiology, biochemistry and molecular biology**. 2th ed. Davies: P.J. Dordrech 1995. p. 598-616.

MATZENAUER, R.; BERGAMASCHI, H.; BERLATO, M.A.; MALUF, J.R.T.; BARNI, N.A.; BUENO, A.C.; DIDONÉ, I.A.; ANJOS, C.S.; MACHADO, F.A.; SAMPAIO, M.R. **Consumo de água e disponibilidade hídrica para milho e soja, no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Fepagro, 2002. 105p. (Boletim Fepagro, 10).

SANCHES, R.F.E. **Relações hídricas e respostas ao déficit hídrico da espécie *Bauhinia forficata* Link.**, mecanismos de manutenção do status hídrico. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2012.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológicos e fisiológicos das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.2, n.3, p.287-294, 1998.

SHAO, H.; CHU, L.; JALEEL, C. A.; ZHAO, C. Water-deficit stress induced anatomical changes in higher plants. **Comptes Rendus Biologies**, Paris, v. 331, p. 215-225, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E, **Fisiologia vegetal**. 3.ed. – Porto Alegre: Artmed. 2011. p.139-145.

UHART, S.A.; ANDRADE, F.H. Nitrogen and carbon accumulation and immobilization during grain filling in maize under different source/sink rations. **Crop Science**, Madison, v.35, p. 183-190, 1995.

BENEFÍCIOS DO SILÍCIO COMO ATENUADOR DE ESTRESSES NAS PLANTAS

Cândido Ferreira de Oliveira Neto

Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém
– Pará

Glauco André dos Santos Nogueira

Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém
– Pará

Luma Castro de Souza

Universidade Federal Rural da Amazônia, Capitão
Poço– Pará

Luciana Ingrid Souza de Sousa

Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém
– Pará

Andressa Pinheiro de Paiva

Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém
– Pará

RESUMO: O silício (Si) é classificado como elemento benéfico para as plantas, sendo considerado essencial por muitos pesquisadores sob condições de estresse biótico e abiótico, embora essa essencialidade ainda não tenha sido comprovada cientificamente. Uma vez absorvido pelas plantas, o Si proporciona muitos benefícios, tais como barreira física na proteção contra doenças, resistência mecânica a ataques por insetos, imobilização de íons e detoxificação dos metais no interior dos tecidos, aumento da capacidade fotossintética e produtividade das culturas. Estresses como deficiência hídrica, salinidade, metais pesados,

causados por insetos pragas que, geralmente, ocorrem sob diferentes condições climáticas durante o desenvolvimento das plantas, os mecanismos que o Si desenvolve ainda são pouco compreendidos, sendo variável para cada espécie. Contudo, se fazem necessárias pesquisas para as determinações de doses e fontes de Si que serão adequadas para a sua absorção efetiva pelas plantas e como resposta a obtenção dos seus efeitos benéficos sobre as mesmas.

PALAVRAS-CHAVE: Silício, estresse, atenuante.

BENEFITS OF SILICON AS A STRESS ATTENUATOR IN PLANTS

ABSTRACT: The silicon (Si) is classified as a benefic element to the plants, considered essential by many researchers under conditions of biotic and abiotic stress. However, this essentiality has not yet been scientifically proven. Si once absorbed by the plants provides many benefits, being this as a physical barrier in protection against diseases, mechanical resistance to insect attacks, immobilization of ions and detoxification of the metals inside the tissues, increased photosynthetic capacity and crop productivity. Stresses such as water deficiency, salinity, heavy metals, caused by insect pests that usually occur under different

climatic conditions during the development of plants, the mechanisms that the Si develops are still poorly understood, being variable for each species. However, research is needed for dose determinations and sources of Si that will be suitable for their effective uptake by plants and in response to obtaining their beneficial effects on them.

KEYWORDS: Silicon, stress, attenuation.

1 | INTRODUÇÃO

A produção agrícola mundial frequentemente é afetada por fatores bióticos e abióticos, que comumente verificam-se perdas na produção de biomassa, assim como no rendimento, crescimento e desenvolvimento dos vegetais (LI ET AL., 2018).

Alguns elementos químicos participam na resistência a estresses causados por esses fatores, o silício é um exemplo. Na agricultura é tratado como um elemento “quase essencial” devido aos resultados promissores no desenvolvimento de resistência a diferentes tipos de estresses, principalmente em monocotiledôneas (Liang et al., 2015). Os principais estresses que são amenizados pelo silício são: à deficiência hídrica, salinidade, toxidez por metais, desequilíbrio nutricional, patógenos nas plantas e pragas de insetos (REYNOLDS et al., 2016).

O silício é considerado o segundo elemento em maior quantidade no solo (CHEN et al., 2018). Sua presença nos solos é distinta em três fases: a fase sólida, a fase adsorvida e a fase líquida. Na fase sólida, está presente como minerais de sílica, silicatos primários e secundários. Por causa dos processos pedogênicos, quanto maior forem às frações de areia e silte, predomina-se o silicato primário, e quanto maior for fração argilosa, predominarão os silicatos secundários (IMTIAZ et al., 2016). Enquanto que na fase adsorvida, o silício está unido aos sítios de troca de ligantes em óxidos e hidróxidos de Fe e Al, o que varia a concentração de Si na solução do solo. Na fase líquida, encontra-se solúvel no solo principalmente na forma de ácido monossilícico (H_4SiO_4) (DEBONA et al. 2017).

Nos vegetais, aproximadamente 99% do silício está presente na forma sílica e menos de 1% na forma de colóide ou iônica. Além disso, todas as plantas na Terra apresentam silício na composição dos seus tecidos, porém, o teor deste elemento varia expressivamente entre as espécies, com uma variação de 0,1 a 10% de silício com base no peso seco (SAHEBI et al., 2015).

A absorção de silício pelas plantas da solução do solo ocorre na forma de ácido monossilícico, molécula não carregada também denominada de ácido ortossilícico (H_4SiO_4). Essa absorção ocorre por meio de dois mecanismos classificados como ativo e passivo. A absorção passiva de Si ocorre juntamente com o fluxo de transpiração, ou seja, com a corrente de água e nutrientes puxadas durante a transpiração. Enquanto que a absorção ativa ocorre por meio de transportadores de efluxo e influxo, localizados na membrana plasmáticas das células da raiz (RIZWAN et al., 2015).

Estima-se que em várias espécies vegetais, mais de 90% do silício absorvido pelas raízes é transportado para as epidermes das folhas e por fim, é depositado como sílica amorfa, principalmente nos órgãos envolvidos na transpiração, onde não é remobilizada (COOKE; LEISHMAN, 2016)

O acúmulo de silício nas paredes das células pode provocar efeitos benéficos (CUNHA et al., 2008). Esse acúmulo ocorre devido à existência de um eficiente sistema de captação através de transportadores de canal e de efluxo, que exercem funções relacionadas ao transporte efetivo deste elemento do solo para as raízes e para a planta como um todo (MA & YAMAJI, 2015).

De forma geral, os transportadores de canal e de efluxo parecem apresentar características essenciais que possibilitam as plantas obterem vantagens na absorção de silício (PONTIGO et al., 2017). O diferencial de absorção pode ser atribuído às variadas taxas de expressão gênica e a localização das aquaporinas que facilitam a absorção de silício (MA; YAMAJI, 2015). Alguns fatores como o intemperismo, a lixiviação, a acidez do solo e a baixa saturação de bases estão envolvidos na limitação de absorção do silício solúvel no solo. Usualmente, as plantas absorvem mais esse elemento em solos menos intemperizados, ou solo geologicamente mais novo em relação a solos ácidos, desgastados. (IMTIAZ et al., 2016).

Estudo realizado por Ramouthar (2009) mostra a distribuição da área coberta com Si na epiderme inferior, na epiderme superior e no mesófilo das folhas de cana-de-açúcar cultivada com doses de até 2.000 mg L⁻¹ de Si (Figura 1). Esses dados evidenciam o promissor sistema de captação de silício em alguns vegetais.

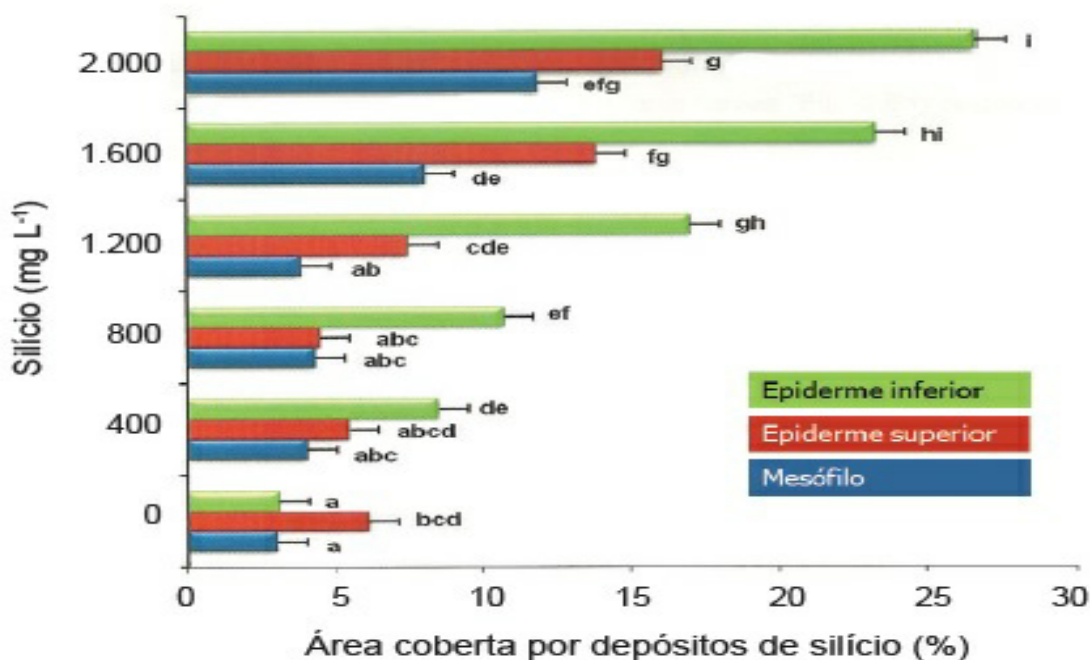


Figura 1. Área coberta por depósitos de silício na epiderme inferior, na epiderme superior e no mesófilo da folha de cana-de-açúcar.

Fonte: Ramouthar (2009).

Em virtude de conhecer como esse elemento beneficia os vegetais em condições de estresse, diversas pesquisas vêm sendo realizadas para entender como os mecanismos biológicos se comportam evidenciando características como: potencial máximo de produtividade de grãos na soja, no feijão e no amendoim (CRUSCIOL et al., 2013); diminuição da antracnose pela aplicação do silício na cultura do sorgo (SANTOS et al., 2014); diminuição dos efeitos prejudiciais da salinidade em mamona (FERRAZ et al., 2015), decréscimo na concentração salina em *Aloe* (XU et al., 2015). Além disso, o silício pode regular a resistência das plantas ou mesmo a tolerância à toxidez causada por metal pesado através de mecanismos externos ou internos (TRIPATHI et al., 2016).

2 | METAIS PESADOS E SILÍCIO

O silício desempenha um papel importante na toxicidade relacionada aos metais pesados, dentre eles o cromo, o alumínio, o cádmio, o zinco, o níquel, o chumbo, e (PONTIGO et al., 2015). Recentemente, a poluição ambiental com o cromo (Cr) através da industrialização e das atividades humanas tornou-se um problema sério. A emissão global de Cr excede a de outros metais pesados como Cd, Hg e Pb (Kabata-Pendias e Mukherjee, 2007). O cromo induz efeitos nocivos ao crescimento das plantas e reduz a germinação de sementes, induz danos oxidativos que afetam a absorção de nutrientes, os processos de fotossíntese, o balanço hídrico e o metabolismo de nitrogênio (SINGH et al., 2013). O crescimento das plantas, assim como o rendimento de grãos e a produção de biomassa são prejudicados pela toxicidade do cromo nas plantas (GILL et al., 2015).

Sendo assim, diversas pesquisas demonstram que o silício atenuou a toxidez do cromo. De acordo com Ali et al. (2013) o silício diminui de forma significativa a concentração de cromo nas folhas, no caule e nas raízes da cevada submetida ao estresse de cromo. Ashfaque et al. (2017) concluíram em sua pesquisa com Si no alívio do estresse por Cr em *Brassica juncea* L., verificou que a aplicação de Si melhora a toxicidade induzida pela Cr, redução da absorção e acumulação de Cr e melhora a atividade fotossintética nas plantas.

O estresse por alumínio também pode ser atenuado quando submetido a tratamentos com silício. De acordo com Emamverdian et al. (2015), o silício atua na planta, complexando-se com os íons de alumínio, fazendo com que este se torne indisponível para absorção ou para induzir modificações na bioquímica e na fisiologia das plantas. Vários estudos concluem que a interação entre esses dois elementos químicos (silício e alumínio) ocorre preferencialmente no interior da planta (GIONGO & BOHNEN, 2011). Exemplos são encontrados no milho (EMAMVERDIAN et al., 2015), na batata (LIMA et al., 2016). Pontigo et al. (2017) estudando o efeito do silício na toxicidade do alumínio em azevém encontraram os primeiros indícios bioquímicos e

moleculares de que o silício neutraliza os efeitos prejudiciais causados pelo alumínio.

O cádmio (Cd) é considerado um dos elementos mais tóxicos, mesmo em concentrações muito baixas, e pode ser liberado no meio ambiente por fontes geogênicas e antropogênicas. É altamente tóxico para as plantas durante sua vida útil, podendo induzir problemas no seu crescimento e desenvolvimento (IMTIAZ et al., 2016). As plantas podem facilmente assimilar o Cd e acumulá-lo na sua parte aérea e radicular, danificando-as, reduzindo a fotossíntese, diminuindo a concentração de elementos essenciais e inibindo o crescimento (GAO et al., 2018).

Para Bokor et al., (2014) o zinco (Zn) é um micronutriente vegetal que se torna fitotóxico em concentrações supra-ótimas, causando danos à membrana, clorose foliar e escurecimento radicular e baixa produção de massa fresca de folhas, caules e raízes.

O Ni é um dos metais pesados que são descarregados das indústrias e fábricas de Ni, incineração de esgoto, atividades de mineração, queima de combustíveis fósseis, adubação e fertilizantes (RIZWAN et al. 2018). Ashraf et al. (2013) realizaram um experimento em vaso irrigado com águas residuais contendo excesso de Ni mediada por Si, em planta de tomateiro. Verificaram que a suplementação de Si amenizou a toxicidade induzida pelo Ni e reteve mais Ni nas raízes, reduzindo sua translocação para as partes aéreas. Estudo realizado por Khaliq et al. (2015) em plantas de algodão relatou que a aplicação de Si aumentou o crescimento de algodão, biomassa e pigmentos fotossintéticos sob estresse de Ni, reduzindo o estresse oxidativo e intensificou as atividades de enzimas antioxidantes em raízes e folhas, constatando que o Si pode aliviar a toxicidade do Ni no algodão.

3 | SALINIDADE E SILÍCIO

Além dos efeitos benéficos do silício contra estresse por metais pesados, este elemento também atenua o estresse causado pela deficiência hídrica e pela salinidade. De acordo com Zhu e Gong (2014) tanto o estresse causado por acúmulo de sais como por falta de água restringe tanto o crescimento quanto a produtividade das culturas, devido estes estresses impedirem o equilíbrio iônico e osmótico nas células. Segundo o mesmo autor, trabalhando o efeito do silício em relação ao sal, aesse elemento favorece a formação de uma barreira física no sistema radicular dos vegetais promovendo resistência a salinidade, assim como melhorando o teor de água nas plantas. Yin et al. (2013) verificaram que a adição de silício em um período curto de tempo reduziu os níveis de sódio em sorgo, porém não elevou os níveis de potássio, mais elevou os de sacarose e frutose.

Trabalhando com planta de girassol aplicando silício sob estresse salino, Conceição, (2015) verificou que o Si, induziu aumentos consideráveis no conteúdo relativo de água (CRA), assim como possibilitou a diminuição de vazamentos de

eletrólitos (VE) das plantas induzidas por estresse salino. Segundo a autora, o Si mitigou os efeitos deletérios da salinidade, evitando a perda de água e vazamento de componentes citoplasmáticos.

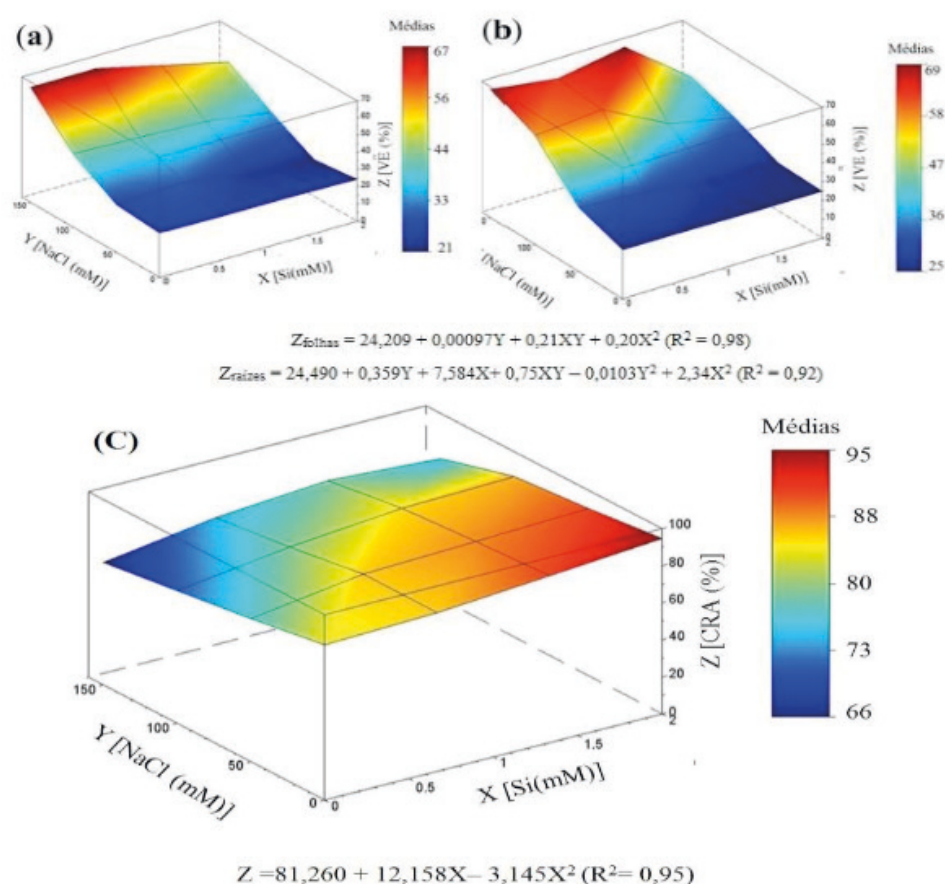


Figura 2: Vazamento de eletrólitos (VE) em folhas (a) e raízes (b) e conteúdo relativo de água (c) de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas em solução nutritiva, em função de concentrações crescentes de silício (Si) e de NaCl. Fonte: Conceição, 2015.

Pesquisa realizada por Souza et al. (2016) verificou a atenuação do silício no metabolismo do nitrogênio em função do estresse salino em plantas de sorgo (*Sorghum bicolor* [Moench.]) e concluiu que a dose indicada para atenuar a ação salina foi 1,5 e 2,0 μM de silício. Lemos Neto et al. (2018) estudando o potencial de silício como atenuador dos efeitos da salinidade na cultura de alface, concluíram que este elemento foi eficaz na redução dos efeitos do acúmulo de sais na qualidade pós-colheita. Zhu et al. (2015) verificaram também que a adição de silício elevou a expressão de aquaporina nas plantas de sorgo e pepino submetidos a salinidade.

4 | DEFICIÊNCIA HÍDRICA E SILÍCIO

Em relação ao efeito atenuador do silício no estresse hídrico, um estudo realizado por Lobato et al. (2009) verificou em plantas de pimentão (*Capsicum annum* L.) induzidas ao déficit hídrico que o Si aumentou a tolerância a esse estresse, mantendo em níveis mais elevados os parâmetros de conteúdo relativo de água da folha,

transpiração, condutância estomática, *clorofilas a e b*, assim como carotenóides.

Souza et al. (2015) avaliando alterações bioquímicas em sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) após exposição a estresse hídrico e aplicações de Si, verificaram que esse elemento atenuou os efeitos negativos do estresse, favorecendo o cultivo em áreas de baixa disponibilidade hídrica, concluindo em sua pesquisa que a aplicação deste composto silicatado é altamente recomendada, em especial para regiões submetidas a condições secas. Para Liu et al. (2014), a utilização do silício elevou de forma significativa a expressão dos genes da aquaporina, elevando conseqüentemente a captação de água do sistema radicular no sorgo submetido a condição de deficiência de água.

Alzahrani et al. (2018) trabalhando com crescentes dosagens de Si, observaram que este elemento melhorou os parâmetros de trocas gasosas de plantas de trigo submetidas a deficiência hídrica, como pode-se observar na tabela 1 abaixo.

Tratamento de Si	Controle	Deficiência hídrica
	Conteúdo Relativo de Água (%)	
0mM	61.4±2.5a	42.4±1.8c
2mM	62.2±2.4a	46.5±1.6b
4mM	61.8±2.6a	51.2±1.9a
6mM	61.8±2.8a	50.9±1.7a
	Taxa fotossintética líquida ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	
0mM	12.9±0.2a	7.2±0.2c
2mM	12.9±0.2a	8.9±0.2b
4mM	12.9±0.2a	10.5±0.3a
6mM	12.9±0.2a	9.6±0.3ab
	Transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	
0mM	6.12±0.16a	3.68±0.10c
2mM	6.20±0.15a	4.55±0.12b
4mM	6.20±0.20a	5.12±0.11a
6mM	6.16±0.18a	4.80±0.12a
	Condutância estomática ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	
0mM	0.46±0.01a	0.28±0.01c
2mM	0.46±0.01a	0.34±0.01b
4mM	0.46±0.01a	0.38±0.01a
6mM	0.46±0.01a	0.34±0.01b

Tabela 1. Efeito do silício nos parâmetros de trocas gasosa de plantas de trigo submetidas a deficiência hídrica.

Fonte: Adaptado de Alzahrani et al., (2018).

5 | SILÍCIO E ENZIMAS ANTIOXIDANTES

Pesquisas científicas têm demonstrado que a utilização de diferentes

concentrações de silício aumenta o potencial da atividade de enzimas antioxidantes, tais como a catalase, ascorbato peroxidase e superóxido dismutase promovendo o ajuste osmótico (KHOSHGOFTARMANESH et al., 2014). Alzahrani et al. (2018) trabalhando com plantas de trigo suplementadas com crescentes concentrações de silício, observaram maior tolerância a deficiência hídrica, salinidade e toxicidade por cádmio através da melhoria nas atividades de superóxido dismutase, catalase e peroxidase.

Barbosa et al. (2015) observaram que o aumento na concentração de silício induziu o aumento de Ascorbato e glutathiona (GSH) na folha de milho sob tratamento de silício. Segundo os mesmos autores a aplicação de silício promoveu uma redução no nível de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) nas folhas de milho. Os mesmos autores concluíram que o silício promove efeitos benéficos nos pigmentos relacionados ao processo fotossintético e na estabilidade da membrana celular em plantas jovens de milho. O silício pode reduzir os níveis de malondialdeído, que é o produto final da peroxidação dos lipídios nas membranas de cevada (LIANG et al., 2003).

6 | INSETOS PRAGAS E SILÍCIO

Apesar de conhecida a capacidade de controle pela aplicação de Si, atualmente, ainda não se sabe ao certo o mecanismo na supressão de insetos pragas nas inúmeras lavouras ao redor do mundo, mas hipóteses são levantadas. A primeira aponta que o controle é exercido pela deposição de sílica amorfa na parede celular da epiderme dos tecidos vegetais, caracterizando uma barreira física, elevando a dureza dos tecidos nas plantas e reduzindo a digestibilidade (reduzindo acesso ao nitrogênio e carbono durante a digestão), causando alterações na biologia dos insetos pragas, podendo levar a diminuição de fecundidade e elevação de taxa de mortalidade (SANTOS et al., 2015). A segunda hipótese é que o Si pode estimular mecanismos naturais de defesa da planta, como a complexação e estímulo à síntese e mobilidade de compostos fenólicos no apoplasma, produção de quitinases, acúmulo de lignina e produção de peroxidase, enzima que participa da regulação hormonal, diferenciação celular, biossíntese de lignina, resposta geral a estresses (EPSTEIN, 1999).

O Si solúvel é considerado um excelente elicitador, pois está envolvido na defesa química induzida por meio do aumento da produção de enzimas de defesa ou da possível melhoria na liberação de voláteis responsáveis pela atração de inimigos naturais, melhorando assim o controle biológico dos herbívoros (REYNOLDS et al., 2009). Um exemplo a ser citado está na forte interação entre Si e jasmonatos (JA) atuando na defesa contra insetos e na atratividade aos inimigos naturais (YE et al., 2013).

A ação do Si sobre os insetos herbívoros pode ocorrer de duas formas: ação direta e ação indireta. Os efeitos diretos incluem a redução no crescimento da planta

e na reprodução do inseto, com simultânea redução do dano na planta. Os efeitos indiretos podem ser considerados como a diminuição ou atraso da penetração do inseto na planta, reduzindo o tempo de exposição da planta às pragas (KVEDARAS; KEEPING, 2007). Insetos herbívoros representam apenas um tipo de estresse biótico para o qual o silício pode providenciar certa defesa, com consequente aumento na produção, principalmente em cultivares suscetível (LAING & ADANDONON, 2005).

Estudos com silício tem sido cada vez mais aprofundado, contribuindo para o avanço desse elemento “quase essencial” na agricultura e atividades florestais. A utilização desse elemento é notória em várias linhas de pesquisa como fisiologia, bioquímica, nutrição, fitopatologia, mas ainda é insuficiente para qualifica-lo como elemento essencial às plantas, portanto, ainda se faz necessário aprofundar cada vez mais o conhecimento desse elemento nessas linhas de pesquisa.

7 | CONCLUSÃO

Diante do exposto, as evidências são bastantes claras quanto à importância desse elemento no crescimento e desenvolvimento vegetal. Contudo, ainda são necessários mais estudos que ajudem a compreender melhor o papel do silício como atenuador de estresses, pois compreendendo os efeitos benéficos desse elemento, poderá ser possível utilizá-lo em escala comercial com intuito de melhorar a produtividade das culturas afetadas por diferentes tipos de estresses.

REFERÊNCIAS

- ALI, S.; FAROOQ, M.A.; YASMEEN, T.; HUSSAIN, S.; ARIF, M.S.; ABBAS, F.; BHARWANA, S.A.; ZHANG, G.P. **The influence of silicon on barley growth, photosynthesis and ultra-structure under chromium stress.** 2013.
- ASHRAF, M.; IMTIAZ, M.; ABID, M.; AFZAL, M.; SHAHZAD, S.M. **Reuse of wastewater for irrigating tomato plants (*Lycopersicon esculentum* L.) through silicon supplementation.** Journal Water Reuse Desalination, v. 3 (2), p. 128 - 139, 2013.
- ASHFAQUE, F.; INAM, A.; INAM, A.; IQBAL, S.; SAHAY, S. **Response of silicon on metal accumulation, photosynthetic inhibition and oxidative stress in chromium-induced mustard (*Brassica juncea* L.).** South African Journal of Botany, v. 111, p.153 – 160, 2017.
- ALZHRANIA, Y.; KUŞVURANB, A.; ALHARBYA, H. F.; KUŞVURANB, RADY, M. M. **The defensive role of silicon in wheat against stress conditions induced by drought, salinity or cadmium.** Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 154, p.187–196, 2018.
- BOKOR, B.; VACULÍK, M.; SLOVÁKOVÁ, L.; MASAROVIC, D.; LUX, A. **Silicon does not Always mitigate zinc toxicity in maize.** Acta Physiologiae Plantarum, v. 36, p.733–743, 2014.
- BARBOSA, M. A. M.; SILVA, M. H. L. DA; VIANA, G. D. M.; FERREIRA, T. R.; SOUZA, C. L. F. DE C.; LOBATO, E. M. S. G.; LOBATO, A. K. DA S. **Beneficial repercussion of silicon (Si) application on photosynthetic pigments in maize plants.** Australian Journal of Crop Science 9(11):1113-1118. 2015.

- CONCEIÇÃO, S. S. **Aclimação de plantas de girassol à salinidade induzida por silício**. 78p. Dissertação (mestrado), fitotecnia. UFC, Ceará. 2015.
- COOKE, J.; LEISHMAN, M. R. **Consistent alleviation of abiotic stress with silicon addition : a meta-analysis**. *Functional Ecology*, v. 30, p. 1340–1357, 2016.
- CHEN, DAOQIAN; WANG, SHIWEN; YIN, LINA; DENG, XIPING. **How Does Silicon Mediate Plant Water Uptake and Loss Under Water Deficiency?** *Frontiers in Plant Science*. V. 9, p. 1-, 2018.
- CRUSCIOL, A.C. SORATTO, R.P. CASTRO, G.S.A. COSTA, C.H.M. da; FELIX NETO, J. **Aplicação foliar de ácido silícico estabilizado na soja, feijão e amendoim**. *Revista Ciência Agronômica*, v. 44, n. 2, p. 404-410, 2013.
- CUNHA KPV; NASCIMENTO CWA; ACCIOLY AMA; SILVA AJ. **Cadmium and zinc availability, accumulation and toxicity in maize grown in a contaminated soil**. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 3:1319-1328. 2008.
- DEBONA, D.; RODRIGUES, A.; DATNOFF, L. E. **Silicon's Role in Abiotic and Biotic Plant Stresses**. *Annual Review of Phytopathology*, , n. 55, p. 85–107, 2017.
- EPSTEIN, E. **Silicon**. *Annual review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Palo Alto, v. 50, p. 641-664, jun. 1999.
- EMAMVERDIAN, A.; DING, Y.; MOKHBERDORAN, F.; XIE, Y. **Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response**. *The Scientific World Journal*, United States, v. 2015, n.1, p 1-18, 2015.
- FERRAZ, R. L. S.; MAGALHÃES, I. D.; BELTRÃO, N.E. M.; MELO, A.S.; NETO, J.F. B.; ROCHA, M.S. **Photosynthetic pigments, cell extrusion and relative leaf water content of the castor be an under silicone and salinity**. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.19, n.9, p.841–8, 2015.
- GILL, R.A., ALI, B., ISLAM, F., FAROOQ, M.A., GILL, M.B., MWAMBA, T.M., AND ZHOU, W. **Physiological and molecular analyses of black and yellow seeded *Brassica napus* regulated by 5-aminolivulinic acid under chromium stress**. *Plant Physiol. Biochem.*, 94, 130–143. 2015.
- GIONGO, V.; BOHNEN, H. **Relação entre alumínio e silício em genótipos de milho resistente e sensível a toxidez de alumínio**. *Bioscience Journal*, Brazil, v. 27, n. 3, p. 348-356, 2011.
- GAO, M.; ZHOU, J.; LIU, H.; ZHANG, W.; HU, Y.; LIANG, J.; ZHOU, J. **Foliar spraying with silicon and selenium reduces cadmium uptake and mitigates cadmium toxicity in rice**. *Science of the Total Environment*, v. 631–632, p. 1100–1108, 2018.
- IMTIAZ, M.; SHAHID, M.; ADNAN, M.; et al. **Silicon occurrence , uptake , transport and mechanisms of heavy metals , minerals and salinity enhanced tolerance in plants with future prospects: A review**. *Journal of Environmental Management*, v. 183, p. 521–529, 2016. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.09.009>>.
- KVEDARAS, O. L.; KEEPING, M. G. **Silicon impedes stalk penetration by the borer *Eldana saccharinainsugarcane***. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, Amsterdam, v.125, n.1, p .103-110, 2007.
- KABATA-PENDIAS, A., MUKHERJEE, A.B. **Trace Elements from Soil to Human**. Springer Verlag, Berlin. 2007.
- KHOSHGOFTARMANESH, A.H.; KHODARAHMI, S.; HAGHIGHI, M. **Effect of silicone nutrition on lipid peroxidation and antioxidant response of cucumber plants exposed to salinity stress**.

KHALIQ, A.; ALI, S.; HAMEED, A.; FAROOQ, M. A.; FARID, M.; SHAKOOR, M. B.; MAHMOOD, K.; ISHAQUE, W.; RIZWA, M. **Silicon alleviates nickel toxicity in cotton seedlings through enhancing growth, photosynthesis and suppressing Ni uptake and oxidative stress Silicon alleviates nickel toxicity in cotton.** Archives of Agronomy and Soil Science, 2015.

LIANG, Y.C., CHEN, Q., LIU, Q., ZHANG, W.H., DING, R.X. **Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.).** J Plant Physiol 160:1157–1164. 2003. DOI:10.1078/0176-1617-01065

LAING, M. D.; ADANDONON, A. **Silicon and insect management: review.** In: **Silicon in agriculture conference**, 3, 2005, Uberlândia. Proceedings Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2005. p. 41-50.

LIU, P., YIN, L. N., DENG, X. P., WANG, S. W., TANAKA, K., AND ZHANG, S. Q. **Aquaporin-mediated increase in root hydraulic conductance is involved in silicon-induced improved root water uptake under osmotic stress in *Sorghum bicolor* L.** J. Exp. Bot. 65, 4747–4756. 2014. DOI: 10.1093/jxb/eru220

LIANG, Y.; NIKOLIC, M.; BÉLANGER, R.; GONG, H.; SONG, A. **Silicon in agriculture: From theory to practice.** Silicon in Agriculture: From Theory to Practice. p.1–235, 2015.

LI, Z.; SONG, Z.; YAN, Z.; et al. **Silicon enhancement of estimated plant biomass carbon accumulation under abiotic and biotic stresses.** A meta-analysis. Agronomy for Sustainable Development, v. 38, n. 26, 2018. Agronomy for Sustainable Development.

LIMA, M. D. R.; BARROS JR, U. O.; BARBOSA, M. A. M.; SEGURA, F. R.; SILVA, F. F.; BATISTA, B. L.; LOBATO, A. K. S. **Silicon mitigates oxidative stress and has positive effects in *Eucalyptus platyphylla* under aluminium toxicity.** Plant, Soil and Environment, Czech Republic, 62, n.4, p. 164-170, 2016.

LEMONS NETO, H. de S.; GUIMARÃES, M. de A.; MESQUITA, R. O.; SAMPAIO, I. M. G.; HENDGES, A. R. A. de A.; OLIVEIRA, A. B. de. **Silicon Potential as Attenuator of Salinity Effects on Growth and Post-harvest Quality of Lettuce.** Journal of Agricultural Science; Vol. 10, No. 7; 2018.

LOBATO, A. K. S.; COIMBRA, G. K.; MENEZES NETO, M. A.; COSTA, R. C. L.; SANTOS FILHO, B. G.; OLIVEIRA NETO, C. F.; LUZ, L. M.; BARRETO, A. G. T.; PEREIRA, B. W. F.; ALVES, G. A. R.; MONTEIRO, B. S.; MAROCHIO, C. A. **Protective action of silicon on water relations and photosynthetic pigments in pepper plants induced to water deficit.** Research Journal of Biological Sciences, v. 4, p. 617-623, 2009.

MA, J. F., and YAMAJI, N. **A Cooperative system of silicon transport in plants.** Trends Plant Sci. 20, 435–442. 2015. DOI: 10.1016/j.tplants.2015.04.007

PONTIGO, S., RIBERA, A., GIANFREDA, L., MORA, M. L., NIKOLIC, M., AND CARTES, P. **Silicon in vascular plants: uptake, transport and its influence on mineral stress under acidic conditions.** Planta 242, 23–37. 2015. DOI: 10.1007/s00425-015-2333-1

PONTIGO, S.; GODOY, K.; JIMÉNEZ, H.; GUTIÉRREZ-MORAGA, A.; MORA, M. DE LA; CARTES, P. **Silicon-Mediated Alleviation of Aluminum Toxicity by Modulation of Al/Si Uptake and Antioxidant Performance in Ryegrass Plants.** Frontiers in Plant Science, v. 8, p. 1-15, 2017.

REYNOLDS, O. L.; KEEPING, M. G.; MEYER, J. H. **Silicon-augmented resistance of plants to herbivorous insects: a review.** Annals of Applied Biology, Warwick, v. 155, p. 171-186, 2009. DOI: 10.1111/j.1744-7348.2009.00348.x.

- REYNOLDS, O. L., PADULA, M. P., ZENG, R., GURR, G. M. **Silicon: potential to promote direct and indirect effects on plant defense against arthropod pests in agriculture.** *Front. Plant Sci.* 7:744. 2015. DOI: 10.3389/fpls.2016. 00744
- RIZWAN, M.; ALI, S.; IBRAHIM, M.; et al. **Mechanisms of silicon-mediated alleviation of drought and salt stress in plants:** a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015.
- RIZWAN, M.; MOSTOFA, M. G.; AHMAD, M. Z.; IMTIAZ, H.; MEHMOOD, S.; ADEEL, H.; DAI, Z.; LI, Z.; AZIZ, O.; ZHANG, Y.; TU, S. **Nitric oxide induces rice tolerance to excessive nickel by regulating nickel uptake, reactive oxygen species detoxification and defense-related gene expression.** *Chemosphere*, v. 191, p. 23– 35, 2018.
- SINGH, H.P.; MAHAJAN, P.; KAUR, S.; BATISH, D.R.; KOHLI, R.K. **Chromium toxicity and tolerance in plants.** *Environmental Chemistry Letters*, v. 11 (3), 229 - 254, 2013.
- SAHEBI, M., HANAFI, M. M., AKMAR, A. S. N., RAFII, M. Y., AZIZI, P., TENGOUA, F. F., AZWA, J. N. M.; SHABANIMOFRAD, M. **Importance of silicon and mechanisms of biosilica formation in plants.** *Biomed. Res. Int.* 2015:396010. 2015. DOI: 10.1155/2015/396010.
- SANTOS, R. RODRIGUES, A.C. BONIFACIO, A. NUNES JUNIOR, A.F.C. TSCHOEKE, P.H. **Severidade de antracnose em folhas de sorgo submetido a doses crescentes de silício.** *Revista Ciência Agrônômica*, v. 45, n. 2, p. 403-408, 2014.
- SANTOS, M. dos; JUNQUEIRA, A. R.; DE SÁ, V. M.; ZANÚNCIO, J.; SERRÃO, J. **Effect of silicon on the morphology of the midgut and mandible of tomato leaf miner *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) larvae.** *Invertebrate Survival Journal, Modema*, v. 12, p. 158–165, 2015.
- SOUZA, L. C. DE ; LIMA, E. G. S. DA ; ALMEIDA, R. F. ; NEVES, M. G. ; NOGUEIRA, G. A. S. ; OLIVEIRA NETO, C. F. ; COSTA, A. S. DA ; MACHADO, L. C. ; NASCIMENTO, S. M. C. ; BRITO, A. E. A. **Nitrogen metabolism in sorghum under salinity and silicon treatments in Brazil.** *African Journal of Agricultural Research*, v. 11, p. 199-208, 2016.
- SOUZA, L. C. DE ; NOGUEIRA, G. A. S. ; ALMEIDA, R. F. ; SOUZA, L. C. ; NEVES, M. G. ; OLIVEIRA NETO, C. F. ; OLIVEIRA, T. B. DE ; VIÉGAS, I. J. M.; OKUMURA, R. S. **Application of multivariate analysis to evaluate the biochemical changes in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) after exposure to water stress and silicon applications.** *African Journal of Biotechnology*, v. 14, p. 3257-3263, 2015.
- TRIPATHI, D. K., BASHRI, G., SINGH, S., SINGH, S., AHMAD, P., PRASSAD, S. M. **“Efficacy of silicon against aluminum toxicity in plants: an overview”.** In: **Silicon in Plants: Advances and Future Prospects**, eds D. K. TRIPATHI, V. P. SINGH, P. AHMAD, D. K. CHAUHAN, and S. M. PRASAD (Boca Raton, FL: CRC Press), 355–366. 2016. DOI: 10.1201/978131536 9310-20
- XU, C. X.; MA, Y. P.; LIU, Y.L. **Effects of silicon (Si) on growth, quality and ionic homeostasis of aloe under salt stress.** *South African Journal of Botany*, v.98, n.1, p. 26-36,2015.
- YE, M.; SONG, Y.; LONG, J.; WANG, R.; BAERSON, S. R.; PAN, Z.; ZHU-SALZMAN, K.; XIE, J.; CAI, K.; LUO, S.; ZENG, R. **Priming of jasmonate-mediated anti herbivore defense responses in rice by silicon.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* v. 110, n. 3, p. 3631–3639, set., 2013. DOI: 10.1073/pnas.1305848110
- YIN, L.N.; WANG, S.W.; LI, J.Y.; TANAKA, K.; OKA, M. **Application of silicone improves salt tolerance through ameliorating osmotic and ionic stresses in the seedling of *Sorghum bicolor*.** *Acta Physiol Plant.* DOI:10.1007/s11738-013-1343-5. 2013.
- ZHU, Y.; XU, X.; HU, Y.; HAN, W.; YIN, J.; LI, H L; GONG HJ. **Silicon improves salt tolerance by increasing root water uptake in *Cucumis sativus* L.** *Plant Cell Rep.* 34, 1629–1646. 2015. DOI: 10.1007/s00299-015-1814-9.

MINIRREVISÃO: CRIOPRESERVAÇÃO DE GAMETAS

Renan Rhonalty Rocha

Universidade Federal do Ceará – UFC
Sobral-Ceará

Maria Vitória Laurindo

Centro Universitário Uninta
Sobral-Ceará

Antonio Erivelton Passos Fontenele

Centro Universitário Uninta
Sobral-Ceará

Camilla Rodrigues Pinho

Centro Universitário Uninta
Sobral-Ceará

Silvia Helena Tomás

Centro Universitário Uninta
Sobral-Ceará

Bárbara Mônica Lopes e Silva

Centro Universitário de Ciências e Tecnologias do
Maranhão - Unifacema
Caxias-Maranhão

Antônio José Rocha

Universidade Federal do Ceará – Ufc
Fortaleza-Ceará

por crioprotetores. Este artigo teve como objetivo examinar tópicos importantes acerca da criopreservação de gametas, como a história de sua descoberta e utilização e suas principais processos e componentes utilizados na atualidade. Realizou-se uma pesquisa bibliográfica através de análise detalhada de materiais publicados na literatura anteriormente, examinando tópicos sobre a biotécnica criopreservação e seus processos. Concluiu-se que se faz necessário uma melhor compreensão da química e da biologia por trás do congelamento e descongelamento para um maior avanço na utilização desta biotécnica. Além disso, determinou-se que a criopreservação bem-sucedida de amostras biológicas pode desempenhar um papel crucial em pesquisas relacionadas à utilidade clínica de todos os tipos de testes em humanos.

PALAVRAS-CHAVE: Biotécnica. Biotecnologia. Gestação assistida.

MINIRREVISION: CRYOPRESERVATION OF GAMETES

ABSTRACT: Cryopreservation is a biotechnology capable of preserving cells and tissues in the long term by drastically reducing its temperature. However, such a process produces cellular damage known as cryoinjury which can be killed by the use of

RESUMO: Criopreservação é uma biotécnica capaz de preservar células e tecidos a longo prazo por meio da redução drástica de sua temperatura. Contudo, esse processo produz danos celulares conhecidos como crioinjúrias que podem ser debelados com a utilização de produtos bioquímicos conhecidos

biochemicals known as cryoprotectants. This article aimed to examine important topics about cryopreservation of gametes, such as the history of their discovery and use and their main processes and components used today. A bibliographical research was carried out through a detailed analysis of previously published literature, examining topics on cryopreservation biotechnology and its processes. It was concluded that a better understanding of the chemistry and biology behind the freezing and thawing is necessary for a greater advance in the use of this biotechnology. In addition, it has been determined that successful cryopreservation of biological samples may play a crucial role in research related to the clinical utility of all types of tests in humans.

KEYWORDS: Biotechnique. Biotechnology. Assisted gestation.

1 | INTRODUÇÃO

Criopreservação em suas mais variadas formas é uma das principais tecnologias facilitadoras para terapias celulares para atender a explosão de interesse e praticidade das terapias celulares nos últimos anos. Desta forma, este processo é amplamente aceito para descrever a preservação de células vivas e capacidade de reanimação biológica (JANG et al., 2017).

Na realidade, a biopreservação celular pode ser alcançada através de uma gama de temperaturas reduzidas, que aumentam a sobrevivência após reduzir atividades biológicas, contudo existem algumas limitações que dependem da modalidade escolhida. A concepção de criopreservação mais apresentada em estudos é o armazenamento de células vivas a temperaturas criogênicas fornecidas por nitrogênio líquido ou o vapor associado (variando de -196° a aproximadamente -170°C). O maior desafio para o se alcançar o sucesso em criopreservação é a mudança de fase da água que ocorre quando se diminui a temperatura abaixo de 0°C . Houveram muitos estudos ao longo das últimas décadas sobre os efeitos biológicos do congelamento na maioria das vezes reino vegetal (JANG et al., 2017; FULLER et al., 2017; IAVOR et al., 2018).

Diante do exposto, nesta revisão examinaremos tópicos importantes acerca da criopreservação de gametas, como a história de sua descoberta e utilização e suas principais processos e componentes utilizados na atualidade.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Como recurso metodológico para alcançar o objetivo de averiguar a importância da fase pré-analítica na manutenção de resultados corretos e seguros em um laboratório de análises clínicas (determinando o papel e a relevância da fase pré-analítica na obtenção de resultados corretos e seguros nos laudos emitidos por um laboratório clínico), utilizou-se a pesquisa bibliográfica narrativa que foi realizada por meio de análise detalhada de materiais publicados na literatura anteriormente, além

de artigos científicos que foram divulgados em meio eletrônico.

Foram utilizados artigos e livros, pois se tratam de embasamento teórico para pesquisa e fontes disponíveis em meio eletrônico, através da base de dados Lilacs, Medline e Scielo contendo as palavras – chave: criopreservação e gametas masculinos e femininos. As estratégias de busca foram criopreservação and gametas, criopreservação and gametas masculinos e criopreservação and gametas femininos.

Como população de estudo, foram verificados 52 artigos científicos, onde foram excluídos 22 artigos por não obedecerem aos critérios de inclusão, no período de janeiro a julho de 2019. Os artigos e livros utilizados foram publicados entre os anos 1897 e 2019, segundo o esquema resumido na figura 1.

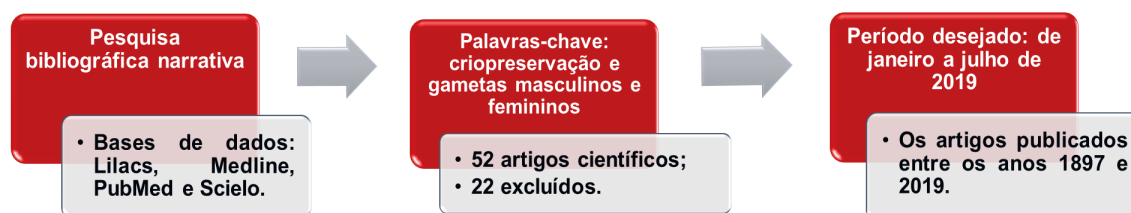


Figura 1: Esquema metodológico de busca de dados na literatura.

Fonte: Próprio autor.

Os critérios de exclusão foram: artigos que não condizem com o objetivo proposto do presente estudo e aqueles que não possuem texto completo disponível. Não foi utilizado limite de tempo para busca dos artigos. O planejamento obedeceu às seguintes etapas: (1) os artigos foram selecionados de acordo aos critérios de inclusão; (2) leitura do resumo; (3) leitura e análise dos artigos incluídos.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Breve história da criopreservação

O crescente entendimento dos efeitos de congelamento advém com o desenvolvimento de microscópios capazes de observar diretamente este processo, por exemplo Molisch (1897) descreveu o processo de congelamento em tecidos vegetais, destacando um dos problemas centrais com formação de gelo: exposição das células a um ambiente hipertônico residual com solutos, originalmente dissolvidos no ambiente aquoso, mas que são excluídos da estrutura de cristal de gelo. Desta maneira, as células experimentaram um estresse osmótico letal que pode ser detectado no nível estrutural depois do descongelamento.

Outros cientistas da mesma época publicaram seus achados, como Maximov (1912) que forneceu evidências de que plantas que suportam o inverno do norte da Rússia, os tecidos passaram por um processo de endurecimento sazonal acompanhado por acúmulo de solutos como alguns açúcares. Nos últimos 50 anos,

outros autores continuaram a explorar os princípios biofísicos e efeitos biológicos da transição para fase de gelo no interior de células, como Luyet (1947) que em seu estudo fez muitas observações pertinentes sobre estruturas de cristal de gelo, as mudanças provocados pelas alterações na cinética de resfriamento ou a presença de solutos em meio aquoso e seus efeitos em células vivas. Influenciado por esses estudos, Polge e colaboradores (1949) em seus estudos sobre congelamento de células reprodutivas (notavelmente espermatozoides de aves para melhorar a criação animal no período pós Segunda Guerra Mundial) apresentaram a primeira evidência clara de recuperação de células funcionais após deliberada exposição criogênica profunda (neste caso a -79°C usando carbono sólido, uma vez que nitrogênio líquido não estava disponível naquele momento). A chave para o seu sucesso foi a exposição do esperma ao glicerol antes do processo de resfriamento (FULLER et al., 2017).

3.2 Processos de Criopreservação e Seus Componentes

Para se entender o processo de criopreservação, tem-se que entender inicialmente os processos termodinâmicos de mudança de fase água-gelo e suas implicações para a células. Como é universalmente aceito, a água é o componente essencial para quase todos os processos biológicos, e sua remoção durante a formação de gelo submete a célula a desafios extremos. Desta forma, sabe-se que existem diversos mecanismos de lesão nas celular mal compreendidos, contudo é possível enumerar os principais eventos a serem debelados para se obter uma criopreservação com alta taxa de sobrevivência, como a intolerância osmótica, toxicidade dos crioprotetores, lesão por resfriamento ou choque frio associada com a redução da temperatura de nucleação e lesão associada à mudança de fase água-gelo até um estado vítreo, conforme figura 1 (MOTTA et al., 2014; WOODS et al., 2016; BAUST et al., 2017).

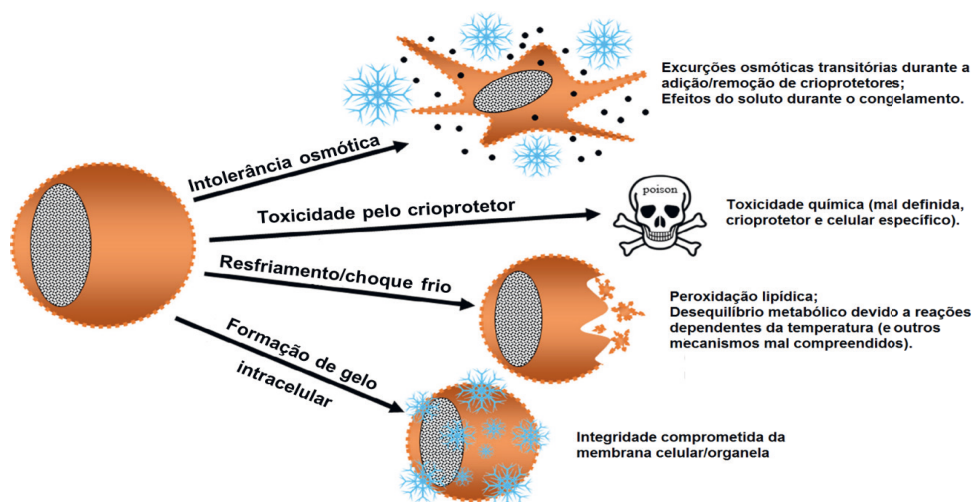


Figura 1: Possíveis mecanismos de danos que podem ocorrer durante o processamento de criopreservação.

Fonte: WOODS et al., 2016.

Para tanto, o comportamento de congelamento das células pode ser alterado na presença de um agente crioprotetor, que afeta as taxas de transporte de água, nucleação e crescimento de cristais de gelo. Portanto a adição de crioprotetores é uma prática comum durante criopreservação para reduzir os danos causados pelo congelamento e descongelamento induzidos nas células. Eles protegem lentamente células congeladas através de efeitos coligativos, mitigando o dano do soluto suprimindo a concentração de sal na fração não congelada a uma determinada temperatura. Também se presume que a viscosidade cada vez mais alta dos crioprotetores durante a diminuição da temperatura pode inibir ou retardar o crescimento de cristais de gelo prejudiciais. Há uma grande dificuldade em sua escolha, variando de solutos de baixo peso molecular, como DMSO e glicerol, açúcares como sacarose, para alto peso molecular polímeros tais como polivinilpirrolidona e hidroxietil amido (quadro 1) (JANG et al., 2017; ROGULSKA.; PETRENKO, PETRENKO, 2017).

Crioprotetores identificados por ***comum, **moderada ou *infrequente escolha do agente		
Agentes de permeabilidade celular	Açúcares (que podem permear células em um grau dependendo tamanho molecular)	Polímeros
DMSO ***	Sacarose ***	Polietilenoglicol (PEG) ***
Etilenoglicol ***	Trehalose ***	Hidroxi Etilamido ***
Propilenoglicol ***	Rafinose **	Polivinilpirrolidona (PVP) **
Glicerol **	Manitol **	Ficoll **
Metanol *	Glucose *	Proteínas séricas (mistura) **
Etanol *	Galactose *	Proteínas do leite (mistura) **
Misturas específicas de crioprotetores são freqüentemente selecionadas para estratégias específicas de preservação celular. Os oligossacarídeos tendem a atuar como crioprotetores de ação osmótica não permeante, enquanto os monossacarídeos podem permear células de mamíferos em um grau dependendo do tipo de célula.		

Quadro 1:

Fonte: FULLER et al. 2017.

Nesta divisão, apresentam-se sub-classes como aqueles que atravessam a membrana plasmática, interagindo com os meios intra e extracelulares e os que não atravessa. A eficácia de um crioprotetor para um determinado tipo de célula geralmente depende da permeabilidade e sua toxicidade. Atualmente o DMSO é o mais utilizado por possuir a capacidade de permear a maioria das células e historicamente tem produzido melhores resultados pós-descongelamento do que outros, e também por ser de fácil acesso. Entre as maiores realizações científicas, a criopreservação de embriões ganhou destaque há mais de 45 anos (MASSIE et al., 2014; PETRENKO, PETRENKO, 2017).

Em 1972, Whittingham e associados tiveram sucesso na criopreservação de embriões de oito células de camundongos. Desde aquela época, um grande número de embriões de várias espécies de mamíferos foram congelados, descongelados

e, eventualmente, transferidos com sucesso, provando assim os benefícios deste procedimento. A ideia de congelar os gametas humanos para seu uso futuro encorajou os cientistas a incorporar a criobiologia no campo da medicina reprodutiva. Os cientistas descobriram pela primeira vez como congelar com sucesso um embrião, e somente depois disso, conseguiram uma criopreservação bem-sucedida do oócito. O primeiro bebê nascido após uma transferência de blastocisto congelado e, posteriormente, descongelado foi relatado por Cohen et al. (1985). A criopreservação de embriões é agora um procedimento de rotina e existem dados publicados suficientes que apoiam a sua eficácia. Em se tratando de perspectivas futuras, em se tratando de estatísticas, tem-se que o número de transferência de embriões aumentou mais de 2,5 vezes nos últimos 20 anos, contudo quando se discutem embriões congelados e seu uso na prática clínica, a primeira questão que surge é o risco para a prole, quando estamos aplicando essa tecnologia (PUSCHMANN et al., 2014; MAZIARZ et al., 2016; JANG et al., 2017).

4 | CONCLUSÃO

Uma melhor compreensão da química e da biologia por trás do congelamento e descongelamento será necessária para o desenvolvimento futuro deste processo e para encontrar o método de criopreservação mais seguro e eficaz para todos os tipos de amostras. A criopreservação bem-sucedida de amostras biológicas pode desempenhar um papel crucial em pesquisas relacionadas à utilidade clínica de todos os tipos de testes em humanos. Coletivamente, os objetivos futuros mais proeminentes da criopreservação devem se concentrar no desenvolvimento de procedimentos que afetam minimamente a integridade das células ou tecidos criopreservados, seguidos pela padronização e otimização da técnica para uso rotineiro, tornando, desta forma, seu uso seguro, simples e barato.

REFERÊNCIAS

BAUST, J. G. et al. Integrating molecular control to improve cryopreservation outcome. **Biopreserv. Biobank**, v. 15, n. 2, p. 134–141, 2017.

COHEN, J. et al. Pregnancies following the frozen storage of expanding human blastocysts. **Journal of In Vitro Fertilization and Embryo Transfer**, v. 2, n. 2, p. 59-64, 1985.

IAVOR, K. et al. (November 5th 2018). The Present and Future of Embryo Cryopreservation [Online First], **IntechOpen**, DOI: 10.5772/intechopen.80587. Disponível em: <<https://www.intechopen.com/online-first/the-present-and-future-of-embryo-cryopreservation>>. Acesso em: 20 de jun de 2019.

FULLER, G. M. et al. **Applications and optimization of cryopreservation technologies to cellular therapeutics**. **Cell & Gene Therapy Insights**, v. 3, n. 5, p. 359-378, 2017.

JANG, T. H. et al. Cryopreservation and its clinical applications. **Integr Med Res**, v. 6, n. 1, p. 12–18, 2017.

- LUYET, B. J.; GEHENIO, P. M. Thermoelectric recording of ice formation and of vitrification during ultra-rapid cooling of protoplasm. **Federation Proceedings**, v. 6, n. 1, p. 157, 1947.
- MASSIE, I. et al. GMP cryopreservation of large volumes of cells for regenerative medicine: active control of the freezing process. **Tissue Engineering Part C-Methods**, v. 20, n. 9, p. 693–702, 2014.
- MAXIMOV, N. A. Chemical protective agents of plants against freezing injury concerning the nature of the protective effect. **Berichte Deutschen Bot. Gesellschaft**, v. 30, p. 504–16, 1912.
- MAZIARZ, R. T. et al. Mesenchymal stromal cells: potential roles in graft-versus-host disease prophylaxis and treatment. **Transfusion**, v. 56, n. 4, p. S9–S14, 2016.
- MOLISCH, H. [Untersuchungen über das Erfrieren der Pflanzen]. **Science**, v. 6, n. 157, p. 1002–1003, 1897.
- MOTTA, J. P. R. et al. Evaluation of intracellular and extracellular trehalose as a cryoprotectant of stem cells obtained from umbilical cord blood. **Cryobiology**, v. 68, n. 3, p. 343–348, 2014.
- POLGE, C.; SMITH, A. U.; PARKES, A. S. Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. **Nature**, v. 164, n. 4172, p. 666, 1949.
- PUSCHMANN, E. et al. Liquidus tracking: controlled rate vitrification for the cryopreservation of larger volumes and tissues. **Cryo. Letters**, v. 35, n. 4, p. 345–55, 2014.
- ROGULSKA, O.; PETRENKO Y, PETRENKO A. DMSO-free cryopreservation of adipose-derived mesenchymal stromal cells: expansion medium affects postthaw survival. **Cytotechnology**, v. 69, n. 2, p. 265–76, 2017.
- WHITTINGHAM, D.; LEIBO, S.; MAZUR, P. Survival of mouse embryos frozen to –196 and –269 C. **Science**, v. 178, n. 4059, p. 411-414, 1972.
- WOODS, E. J. et al. Off the shelf cellular therapeutics: Factors to consider during cryopreservation and storage of human cells for clinical use. **Cytotherapy**, v. 18, n. 6, p. 697 – 711, 2016.

BIOTECNOLOGIA COMO FERRAMENTA PARA O CONHECIMENTO E CONSERVAÇÃO DA FAUNA E FLORA AMAZÔNICA

Marcelo Derzi Vidal

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Centro Nacional de Pesquisa e Conservação da Sociobiodiversidade Associada a Povos e Comunidades Tradicionais, São Luís - Maranhão, Brasil.

Elba Pereira Chaves

Universidade Estadual do Maranhão, Centro de Ciências Agrárias, São Luís - Maranhão, Brasil.

Programa de Doutorado da Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal, São Luís - Maranhão, Brasil.

Vilena Aparecida Ribeiro Silva

Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Maranhão – IFMA, São Luís - Maranhão, Brasil.

Programa de Doutorado da Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal, São Luís - Maranhão, Brasil.

RESUMO: A Amazônia é reconhecida mundialmente como um grande reservatório de espécies animais e vegetais e fonte inestimável de riquezas. No entanto, boa parte das espécies que ocorrem neste bioma apresenta carência de informações e sofrem com as ameaças provenientes de atividades antrópicas como a expansão da pecuária, a extração madeireira, o agronegócio, a mineração ilegal e a sobrecaça. Neste artigo apresentamos como diferentes ferramentas biotecnológicas têm possibilitado melhor conhecer e aproveitar a megadiversa

fauna e flora amazônica em diversas áreas de interesse, como a química de produtos naturais, a alimentação e saúde humana, e a produtividade vegetal e animal.

PALAVRAS-CHAVE: Amazônia, Biodiversidade, Uso sustentável

BIOTECHNOLOGY AS A TOOL FOR KNOWLEDGE AND CONSERVATION OF AMAZON FAUNA AND FLORA

ABSTRACT: The Amazon is globally recognized as a large reservoir of plant and animal species and invaluable source of wealth. However, most of the species that occur in this biome has lack of information and suffer threats from human activities such as livestock expansion, logging, agribusiness, illegal mining and overhunting. In this article we present how different biotechnological tools have been used to better know and enjoy the megadiversa Amazon fauna and flora in several areas of interest such as chemical of natural products, food and human health, and plant and animal productivity.

KEYWORDS: Amazon, Biodiversity, Sustainable use

1 | INTRODUÇÃO

O Brasil possui um terço das florestas tropicais remanescentes do mundo e é

reconhecidamente um dos mais importantes repositórios da diversidade biológica mundial, englobando pelo menos 13% de todas as espécies que existem (AYRES et al., 2005; LEWINSOHN, 2006).

Apesar dos números expressivos, boa parte das espécies brasileiras, principalmente as que ocorrem na região amazônica, apresenta carência de informações ecológicas e populacionais (MACHADO et al., 2005). A grande tendenciosidade amostral, ditada por fatores como acessibilidade a áreas e determinadas tipologias florestais, a grande variação espacial dos esforços de coleta e observação, e a pequena proporção amostrada até o momento, mesmo para os táxons mais conhecidos, sugere um desconcertante desconhecimento sobre a Amazônia (PERES, 2005). Conseqüentemente, temos grandes dificuldades em planejar a adequada conservação e uso sustentável de seus recursos naturais.

Sem dúvida, a Amazônia brasileira enfrenta as maiores ameaças e apresenta as maiores oportunidades para a conservação da biodiversidade da nossa época (PERES, 2005), por isso, o uso de novas abordagens e ferramentas que permitam melhor conhecer seus inúmeros organismos, passou a ser impositivo. Neste artigo apresentamos como a Biotecnologia vem sendo utilizada como ferramenta para o conhecimento e uso sustentável das espécies da fauna e flora amazônica.

2 | BIOTECNOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE

O termo biotecnologia é utilizado para definir o conjunto de tecnologias que utilizam sistemas biológicos, organismos vivos ou seus derivados para a produção ou modificação de produtos e processos para uso específico, bem como para gerar novos serviços e produtos úteis para os diversos segmentos industriais e para a sociedade (BRASIL, 2010). Nesse sentido, muito antes que o homem entendesse a Biologia, ele já lidava com a biotecnologia na produção de vinhos e pães (BORÉM, 2005).

Atualmente, com o avanço dos estudos em genética, fisiologia, zoologia, botânica, agronomia, e áreas afins, a biotecnologia tem ocupado cada vez mais um espaço de vanguarda na geração de conhecimentos da biodiversidade e no melhor aproveitamento das espécies.

No Brasil, a biotecnologia integra a base produtiva de diversos setores da economia, com um mercado de produtos biotecnológicos que atinge a ordem de 2,8 % do PIB nacional (ASSAD; AUCÉLIO, 2004), e sua atuação tem aumentado em número e em intensidade em esferas com interesses diversificados, como empresas do setor químico e farmacêutico, instituições de ensino, pesquisa e desenvolvimento, jardins botânicos e zoológicos, organizações não governamentais, comunidades locais e populações indígenas (ODALIA-RÍMOLI et al., 2000).

São inúmeros os exemplos dos avanços recentes, como os novos medicamentos produzidos por engenharia genética, órgãos e tecidos para transplante sem

rejeição, plantas utilizadas como vacinas, vegetais enriquecidos com vitaminas, micro-organismos geneticamente modificados para biorremediação e biomateriais de aplicação em saúde humana e de uso industrial (tecidos, plásticos vegetais e biodegradáveis, polímeros, produtos químicos e de eletrônica molecular).

No entanto, as novas técnicas de exploração da biodiversidade permeiam o conceito conservacionista, objetivando não somente o ganho econômico, mas, principalmente, a conservação dos recursos naturais (ODALIA-RÍMOLI et al., 2000). Desta forma, ações de bioprospecção em áreas de alta diversidade biológica, tais como a Amazônia, têm crescido substancialmente nos últimos anos e contribuído para a geração de novos conhecimentos sobre padrões populacionais das espécies, recuperação de populações em declínio, exploração sustentável de substâncias e princípios ativos, e geração de renda para comunidades envolvidas no cultivo ou extração das espécies.

3 | FERRAMENTAS BIOTECNOLÓGICAS NA CONSERVAÇÃO DA FAUNA AMAZÔNICA

3.1 DNA mitocondrial e DNA barcode

O DNA mitocondrial (DNAMt) é uma molécula relativamente grande e pode ser facilmente detectada através de diversos métodos, como enzimas de restrição, polimorfismo de conformação em fita simples e sequenciamento. O principal uso deste tipo de DNA na conservação está na resolução de incertezas taxonômicas, na definição de unidades de manejo e no auxílio ao entendimento da biologia das espécies. Espécies agrupadas incorretamente, pela ausência de uma identificação taxonômica correta, podem ficar sem proteção legal, sofrer hibridização com outras espécies, e permitir que espécies não reconhecidas que estão em perigo tornem-se extintas (FRANKHAM et al., 2008).

Recentemente, Hrbek et al. (2014) utilizaram análises de DNAMt e DNA nuclear para propor a descoberta de uma nova espécie de golfinho fluvial, o boto-do-Araguaia (*Inia araguaiaensis*). Apesar de apresentar diferenças morfológicas sutis com as duas espécies do gênero *Inia* descritas até então (*I. geoffrensis* e *I. boliviensis*), a comprovação que se tratava de uma espécie distinta foi feita somente após análises de DNA de dezenas de botos da bacia do Solimões-Amazonas, da sub-bacia Boliviana, e do rio Araguaia. Após as análises, os autores observaram que não havia compartilhamento de linhagens entre os animais estudados. Estudo similar foi desenvolvido por Huergo (2010) nos rios da Amazônia a fim de estimar a diversidade genética da piraíba (*Brachyplatystoma filamentosum*) e da piraíba-negra (*Brachyplatystoma capapretum*) por meio do DNAMt. O estudo detectou a possibilidade de existirem mais duas espécies, mostrando a necessidade crescente do conhecimento sobre os recursos aquáticos amazônicos para subsidiar o seu

manejo e conservação adequados.

Neste contexto, surgiu a ideia de realizar a discriminação de todas as espécies vivas do planeta através da utilização de um pequeno segmento padronizado de DNA, técnica conhecida por código de barras de DNA ou DNA Barcode (SOUSA et al., 2015). Para os animais, foi estabelecida como código de barras uma região de um gene mitocondrial denominado de citocromo C Oxidase Subunidade I (COI) (AZEREDO-ESPIN, 2005). O uso do DNA Barcode tem apresentado alta taxa de sucesso na identificação rápida de espécies de diversos grupos de artrópodes, aves, peixes e anfíbios (HEBERT et al., 2003). A partir dessa necessidade de “catalogar” os organismos, foi criado um banco gênico do DNA Barcode (BOLD-Barcode of Life Database) para o depósito de todas as espécies com sequenciamento publicado e também um Consórcio para o Código de Barras da Vida (CBOL), com a participação de mais de 120 organizações de 45 países, objetivando a promoção e investigação para a formação de uma biblioteca de códigos de barras para os organismos eucariotos (RATNASINGHAM; HEBERT, 2007).

3.2 Marcadores moleculares

O uso de marcadores moleculares vem se destacando como uma ferramenta viável nos programas de conservação. Segundo Faleiro (2007), estes marcadores permitem gerar informações sobre a identidade genética, a diversidade, a frequência gênica e os relacionamentos filogenéticos, que são úteis na conservação dos recursos genéticos e podem complementar as informações ecológicas e morfológicas. Entre os marcadores moleculares disponíveis, destacam-se os microssatélites (SSRs - Simple Sequence Repeat, ou STRs - Single Tandem Repeat), que são muito variáveis e abundantemente distribuídos no genoma de eucariotos (FRANKHAM et al., 2008).

Com o objetivo de realizar uma caracterização molecular inicial do jurará, e de avaliar a variabilidade genética existente em populações do Banco de Germoplasma Animal da Amazônia Oriental, Silva et al. (2011) utilizaram outro tipo de marcador molecular, conhecido como RAPD (Polimorfismos de DNA Amplificados ao Acaso), e os resultados indicaram a existência de variabilidade genética a ser explorada no contexto da conservação da espécie.

3.3 Inseminação artificial

Segundo Ax et al. (2000), a inseminação artificial é uma das técnicas reprodutivas de maior destaque no que diz respeito a conservação de espécies, pois possibilita que um único exemplar selecionado produza quantidades suficientes de células germinativas para serem utilizadas em uma centena de outros indivíduos. Outra vantagem da inseminação artificial é a possibilidade de utilização tanto de sêmen resfriado quanto criopreservado, o que torna desnecessário o transporte de animais de uma instituição a outra para fins de acasalamento (MICHELETTI et al., 2011).

No Plano de Ação Nacional para Conservação da Ararinha-azul, o Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio, em parceria com a Al Wabra Wildlife Preservation - AWWP, conseguiu gerar a partir da inseminação artificial dois filhotes da ararinha-azul (*Cyanopsitta spixii*). Esta conquista foi destaque em todo mundo, não apenas pelo sucesso da técnica naqueles animais, mas especialmente em virtude do fato de não existirem exemplares vivos na natureza, apenas pequenas unidades em cativeiro (ICMBIO, 2013).

3.4 Fertilização *in vitro*

A fertilização *in vitro* vem se mostrando uma biotecnologia promissora tanto na embriologia básica como na produção animal e tem se destacado ao lado da inseminação artificial com uma alternativa eficiente no processo reprodutivo de espécies em situação de risco populacional. Essa técnica tem um grande potencial para a conservação *ex situ*, pois, uma vez que os embriões sejam produzidos *in vitro*, eles podem ser transferidos para fêmeas doadoras ou criopreservados para posterior transferência de acordo com as possibilidades (DOMINGUES et al., 2011), permitindo que o material genético não só seja preservado, mas possibilitando trocas genéticas com maior eficiência e facilidade.

Em pesquisa realizada pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, a fertilização *in vitro* foi considerada uma técnica que traz uma grande esperança para espécies de felinos silvestres amazônicos ameaçados de extinção, como a jaguatirica (*Leopardus pardalis*) e o gato-do-mato (*L. tigrinus*). Em alguns exemplares destas espécies realizou-se a superovulação, retirando os óvulos e fecundando-os *in vitro*, sendo posteriormente implantados em uma “mãe-de-aluguel”. A técnica foi um sucesso, mas a taxa de nascimento foi considerada pequena (BOUERI, 2004).

3.5 Criopreservação de células e tecidos

A criopreservação é conservar gametas, embriões e células somáticas em botijões criogênicos, em nitrogênio líquido a 196°C, ou em sua fase de vapor a -150°C, em que o congelamento possibilita a manutenção dessas células, por um longo período, em condições viáveis de uso (WILSON, 1997).

A criopreservação de embriões de felídeos silvestres já é uma realidade, mas ainda não se apresenta como uma técnica de uso rotineiro. Isso certamente ocorrerá quando as técnicas de cultivo e congelamento de embriões *in vitro* estiverem mais avançadas (MICHELETTI et al., 2011), sendo a jaguatirica a principal espécie de escolha para utilização da técnica. Em 2011, três jaguatiricas foram inseminadas artificialmente por meio de sêmen congelado (criopreservação de gametas), que foi coletado de machos do Hospital Veterinário do Refúgio Biológico Bela Vista, de Itaipu-PR.

O Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia - CENARGEN é o responsável pelo armazenamento de sêmen, embriões e ovócitos das espécies e/ou raças de animais domésticos em perigo de extinção do Brasil no Banco de Germoplasma Animal (BGA), localizado na Fazenda Experimental do Pará (MARIANTE et al., 2005). Neste local são criopreservados tecidos de animais amazônicos, como o tracajá, e conservados sêmen de peixes, como o tambaqui (*Colossoma macropomum*).

4 | FERRAMENTAS BIOTECNOLÓGICAS NA CONSERVAÇÃO DA FLORA AMAZÔNICA

4.1 Bancos de germoplasma

Essa técnica baseia-se na coleta de amostras representativas de uma população e sua manutenção em bancos de germoplasma e/ou jardins botânicos, na forma de sementes, estacas, plantas inteiras, etc.

É um procedimento aplicado principalmente em plantas cultivadas que se reproduzem por sementes, as quais podem ser conservadas no frio durante longos períodos de tempo (a 5°C durante 20 a 30 anos; de -18°C a -20°C durante um século). No entanto, é importante ressaltar que a viabilidade das sementes decai com o tempo, sendo necessário periodicamente germiná-las, para que se desenvolvam novas plantas, trazendo a possibilidade de colher novas sementes (MALAJOVICH, 2012).

No bioma amazônico, muitas das espécies da flora não resistem à dessecação, a exemplo do cacau (*Theobroma cacao*), da seringa (*Hevea brasiliensis*) e outras 70% das árvores das florestas tropicais. Uma alternativa à conservação destas espécies é a formação de bancos de germoplasma, os quais também permitem a conservação de plantas de multiplicação vegetativa, como a mandioca (*Manihot esculenta*) e a batata (*Solanum tuberosum*).

Mesmo com limitações, pesquisas vêm sendo desenvolvidas na Amazônia brasileira. Gaia et al. (2010) desenvolveram um trabalho de coleta e avaliação de germoplasma da pimenta-de-macaco (*Piper aduncum*), planta com elevado teor de óleo essencial e que apresenta propriedades biológicas utilizáveis na agricultura e saúde humana. Os autores avaliaram seu germoplasma visando o melhoramento genético e cultivo econômico, concluindo que a espécie apresenta adaptação a diferentes ambientes com relação à vegetação, solo, clima, relevo e drenagem, facilitando o cultivo e domesticação.

4.2 Cultivo de células e tecidos vegetais

A cultura *in vitro* tem a vantagem de ser mais rápida e de ocupar menos espaço que a multiplicação *in vivo*. As principais aplicações estão no cultivo de plantas

ornamentais, de hortaliças e na silvicultura.

A importância das técnicas de cultura de células e tecidos vegetais está bastante relacionada à conservação do germoplasma, tanto das espécies cultivadas como das espécies selvagens. A conservação da biodiversidade é importante não só do ponto de vista do melhoramento agrônomo, mas também do farmacológico, já que a maioria dos medicamentos que dispomos contém princípios ativos extraídos de plantas (MALAJOVICH, 2012).

É importante ressaltar que esta tecnologia está amplamente difundida na América Latina, e representa o segundo produto mais comercializado da biotecnologia agrícola, com ampla difusão na olericultura, na hortifruticultura, na floricultura e na propagação de plantas ornamentais, assim como na produção de plantas de interesse industrial (cana, café) e de mudas de essências florestais para as indústrias de papel (MALAJOVICH, 2012).

4.3 Melhoria genética

O melhoramento de plantas é uma ferramenta biotecnológica que visa à modificação genética dos vegetais para torná-los mais úteis ao homem. Para Borém (2005), o melhoramento de plantas pode ser definido de forma clássica como a ciência ou a arte de modificar as plantas para o benefício humano.

Clement (2001) defende que o melhoramento genético é o principal processo de transformação de um componente da biodiversidade em um recurso genético e, finalmente, em um produto com valor econômico no mercado moderno. Este mesmo autor elaborou uma lista de espécies de fruteiras, principalmente da Amazônia, com grande potencial econômico a ser explorado pelo melhoramento genético, a exemplo do abacaxi (*Ananas comosus*), que é a fruteira nativa mais importante em nível mundial. A lista contém 13 espécies, e dela, somente a graviola (*Annona muricata*), o urucum (*Bixa orellana*), a pupunha (*Bactris gasipaes*), o maracujá (*Passiflora edulis*), o guaraná (*Paullinia cupana*) e o cubiu (*Solanum sessiliflorum*) estão recebendo alguma atenção da pesquisa. Ou seja, 54% das fruteiras domesticadas na Amazônia não estão recebendo a devida atenção. Para o autor do estudo, isto não é falta de potencial, pois todas têm mercados locais e regionais; é falta de imaginação empresarial e investimento na pesquisa e desenvolvimento.

4.4 Marcadores moleculares

A partir dos marcadores moleculares é possível gerar uma grande quantidade de informações sobre identidade genética, diversidade, frequência gênica, relacionamentos filogenéticos, mapeamento genético, seleção assistida, entre outras. Todas essas informações são de extrema importância para os programas de conservação, caracterização e uso de germoplasma e melhoramento genético

(FALEIRO; JUNQUEIRA, 2011).

Por isso, os marcadores moleculares são considerados ferramentas poderosas na geração de informações úteis em diferentes etapas, desde a coleta, caracterização e uso de recursos genéticos, passando por atividades de pré-melhoramento, melhoramento e pós-melhoramento, e suas aplicações podem ser direcionadas aos programas de conservação, caracterização e uso de germoplasma (FALEIRO; JUNQUEIRA, 2011).

Alves (2002) desenvolveu um trabalho de caracterização e comparação da estrutura genética de sete populações de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*), fruteira nativa da Amazônia brasileira, utilizando marcadores microssatélites e descritores botânico-agronômicos. No estudo, foi observada alta variabilidade genética na espécie e divergência entre as populações, a qual foi mais acentuada entre as populações naturais em comparação com as populações do Banco de Germoplasma. A partir dos seus resultados, o autor indica, como estratégia de conservação *in situ*, a necessidade de definição de mais de um local para as coletas e para as reservas genéticas.

5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas últimas décadas diversas atividades humanas têm contribuído para a diminuição ou mesmo extinção de muitas espécies amazônicas, o que vem causando desequilíbrios ambientais, lacunas no conhecimento sobre quantas e quais espécies existem na região, e perda de recursos econômicos potencialmente exploráveis. Assim, tornou-se imperativa a busca de ferramentas que permitam a geração de melhor conhecimento sobre as espécies e, por consequência, o melhor uso e aproveitamento das suas potencialidades naturais.

O desenvolvimento da biotecnologia, sobretudo nos últimos anos, tem contribuído sobremaneira para isso. O uso de técnicas e ferramentas biotecnológicas como os marcadores moleculares, a inseminação artificial e a criopreservação de células e tecidos têm possibilitado melhor conhecer e aproveitar a megadiversa fauna e flora amazônica em diversas áreas de interesse, como a química de produtos naturais, a alimentação e saúde humana, e a produtividade vegetal e animal, fazendo com que um novo paradigma fosse instalado – a economia sendo trabalhada de maneira integrada e não conflituosa com a manutenção da biodiversidade.

REFERÊNCIAS

ALVES, R. M. **Caracterização genética de populações de cupuaçuzeiro, *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex. Spreng.) Schum., por marcadores microssatélites e descritores botânico-agronômicos.** 2002. 146 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2002.

- ASSAD, A. L.; AUCÉLIO, J. G. **Biotecnologia no Brasil: recentes esforços**. In: DA SILVEIRA, J. M.; DAL POZ, M. E.; ASSAD, A. L. Biotecnologia e recursos genéticos: desafios e oportunidades para o Brasil. Campinas: Instituto de Economia/Finep, 2004. p. 33-51.
- AX, R. L.; DALLY, M. R.; DIDION, B.A.; LENZ, R. W.; LOVE, C. C.; VARNER, D. D.; HAFEZ, B.; BELLIN, M. E. **Artificial insemination**. In: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. Reproduction in Farm Animals. 7th ed.. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 376-389.
- AYRES, J. M.; DA FONSECA, G. A. B.; RYLANDS, A. B.; QUEIROZ, H. L.; PINTO, L. P.; MASTERTON, D.; CAVALCANTI, R. B. **Os corredores ecológicos das florestas tropicais do Brasil**. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, 2005. 256 p.
- AZEREDO-ESPIN, A. M. L. **O Código de Barras da Vida baseado no DNA “Barcoding of Life”**: Considerações e Perspectivas. 2005. Disponível em <www.cria.org.br/cgee/documentos/DNABarcoding_2005.doc>. Acesso em: 03 julho 2015.
- BORÉM, A. **A história da biotecnologia**. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, Brasília, n. 34, p. 10-12, 2005.
- BOUERI, A. G. **Fecundação in-vitro pode salvar felinos silvestres**. 2004. Disponível em <<http://cienciahoje.uol.com.br/noticias/zoologia/fecundacao-in-vitro-pode-salvar-felinos-silvestres>>. Acesso em: 10 junho 2015.
- BRASIL. **Biотecnologia Agropecuária**. Boletim Técnico. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2010. 72 p.
- CLEMENT, C. R. Melhoramento de espécies nativas. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos & melhoramento - plantas**. Rondonópolis: Fundação de Apoio à Pesquisa Agropecuária de Mato Grosso, 2001. p. 423-441.
- DOMINGUES, S. F. S.; LIMA, J. S., OLIVEIRA, K. G.; SANTOS, R. R. **Biотecnologias de reprodução como uma estratégia complementar à conservação in situ de primatas neotropicais ameaçados de extinção: perspectivas e desafios**. Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v. 35, n. 2, p. 124-129, 2011.
- FALEIRO, F. G. **Marcadores Genético-Moleculares aplicados a programa de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.
- FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. **Recursos genéticos: conservação, caracterização e uso**. In: FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. M.; JUNIOR, F. B. R. Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2011. p. 513-551.
- FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Fundamentos de genética da conservação**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2008. 280 p.
- GAIA, J. M. D.; MOTA, M. G. C.; CONCEIÇÃO, C. C. C.; MAIA, J. G. S. **Collecting and evaluation of germplasm of spiked pepper from Brazilian Amazon**. Horticultura Brasileira, Brasília, v. 28, n. 2, p. 162-167, 2010.
- HEBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A; BALL, SL; DE WAARD, J. R. **Biological identifications through DNA barcodes**. Proceedings of the Royal Society of London, London, v. 270, p. 313-322, 2003.
- HRBEK, T.; SILVA, V. M. F.; DUTRA, N.; GRAVENA, W.; MARTIN, A. R.; FARIAS, I. P. **A New Species of River Dolphin from Brazil or: How Little Do We Know Our Biodiversity**. Plos One, San Francisco, v. 9, n. 1, p. 1-12, 2014.
- HUERGO, G. P. C. M. **Estimativa da diversidade genética da piraíba (*Brachyplatystoma***

filamentosum Lichtenstein, 1819) e da piraíba negra (*Brachyplatystoma capapretum* Lundberg e Akama, 2005), na Amazônia Brasileira, inferidas por meio do DNA mitocondrial: subsídios para manejo e conservação. 2010. 116f. Tese (doutorado). INPA, Manaus, 2010.

ICMBIO. **Parceria gera ararinha-azul por inseminação artificial**. 2013. Disponível em <<http://www.icmbio.gov.br/porta1/comunicacao/noticias/20-geral/4034-parceria-gera-ararinha-azul-proveniente-de-inseminacao-artificial.html>>. Acesso em: 08 junho 2015.

LEWINSOHN, T. M. (Ed.). **Avaliação do estado do conhecimento da biodiversidade brasileira**. Brasília: MMA, 2006. 520 p.

MACHADO, A. B. M.; MARTINS, C. S.; DRUMOND, G. M.; PAGLIA, A. P. **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**. Brasília: MMA; Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 2005. 1420 p.

MALAJOVICH, M. A. **Biotecnologia 2011**. Rio de Janeiro: Edições da Biblioteca Max Feffer do Instituto de Tecnologia ORT, 2012. 304 p.

MARIANTE, A. S.; ALBUQUERQUE, M. S. M.; EGITO, A. A.; PAIVA, S. R.; CASTRO, S. T. R. **Conservação de raças brasileiras ameaçadas de extinção e a importância de sua inserção em sistemas de produção**. Agrociência, Brasília, v. 9, n. 2 e 3, p. 459-464, 2005.

MICHELETTI, T.; CUBAS, Z. S.; MORAES, W. ; OLIVEIRA, M. J.; KOZICKI, L. E.; WEISS, R. R.; MOREIRA, N. **Reprodução assistida em felídeos selvagens – uma revisão**. Revista Brasileira Reprodução Animal, Belo Horizonte, v. 35, n. 4, p. 408-417, 2011.

ODALIA-RÍMOLI, A.; ARRUDA, E. J.; RÍMOLI, J.; BUENO, N. R.; DA COSTA, R. B. **Biodiversidade, Biotecnologia e Conservação Genética em Desenvolvimento Local**. Interações, Campo Grande, v. 1, n. 1, p. 21-30, 2000.

PERES, C. A. **Por que precisamos de megareservas na Amazônia**. Megadiversidade, Rio de Janeiro, v. 1, n. 1, p. 174-180, 2005.

RATNASINGHAM, S.; HEBERT, P. D. N. **Bold: The barcode of life data system**. Molecular Ecology Notes, Malden, v. 7, p. 355-364, 2007.

SILVA, C. S.; COSTA, M. R. T.; FORTES, A. C. R.; MARQUES, L. C.; AGUIAR, J. F.; MARQUES, J. R. F. **Variabilidade genética em muçã utilizando marcadores moleculares RAPD**. Revista de Ciências Agrárias, Belém, v. 3, n. 54, p. 307-313, 2011.

SOUZA, C. P. A.; AMORIM, A. P. S.; ALVES J. J.; TCHAICKA, L. **Código de Barras de DNA: uma atividade para entender a identificação de espécies**. Genética na Escola, Ribeirão Preto, v. 10, n. 1, p. 20-27, 2015.

WILSON, E. O. **Biodiversidade**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. 657 p.

DIVERSIDADE GENÉTICA DE SEIS RAÇAS CAPRINAS BRASILEIRAS

Bruna Lima Barbosa

Universidade Federal do Piauí, *Campus* Ministro
Petrônio Portela
Teresina – Piauí

Vanessa dos Santos Neri

Instituto Regional da Pequena Agropecuária
Apropriada (IRPAA)
Juazeiro – Bahia

Abigail Araújo de Carvalho

Universidade Federal do Piauí, *Campus* Ministro
Petrônio Portela
Teresina – Piauí.

Débora Araújo de Carvalho

Universidade Federal do Piauí, *Campus* Ministro
Petrônio Portela
Teresina – Piauí

Eliene Pereira de Oliveira

Unidade Escolar Patronato Nossa Senhora de
Lourdes
Campo Maior – Piauí

Artur Oliveira Rocha

Universidade Federal do Piauí, *Campus* Ministro
Petrônio Portela
Teresina – Piauí

José Lindenberg Rocha Sarmento

Pesquisador do CNPq, Universidade Federal do
Piauí, *Campus* Ministro Petrônio Portela
Teresina – Piauí

Fábio Barros Britto

Universidade Federal do Piauí, *Campus* Ministro
Petrônio Portela
Teresina – Piauí

Max Brandão de Oliveira

Universidade Federal do Piauí, *Campus* Ministro
Petrônio Portela
Teresina – Piauí

Soraya Sara Viana Castro

Universidade Federal do Piauí, *Campus* Ministro
Petrônio Portela
Teresina – Piauí

Maria Ivamara Soares Macedo

Instituto Federal do Piauí, *Campus* Teresina
Central
Teresina – Piauí

RESUMO: Os caprinos foram introduzidos no Brasil pelos colonizadores sendo, provavelmente, oriundos da Península Ibérica, em meados do ano de 1500. As raças nativas brasileiras de caprinos são caracterizadas, principalmente, por possuírem relevante rusticidade, serem menos susceptíveis a doenças e bem adaptadas as adversas condições ambientais das regiões semiáridas. Essas raças de caprinos nativos são encontradas, em maior proporção, na Região Nordeste, na qual são criadas em sistemas extensivo e semi-extensivo e possuem propósitos produtivos para carne, pele e leite, podendo essas aptidões variar entre raças. Um estudo de caso realizado a partir de informações genéticas de seis raças brasileiras de caprinos criadas no

estado do Piauí (Azul, Marota, Canindé, Moxotó, Repartida e Graúna) e comparadas com três raças exóticas especializadas (Boer, Parda Alpina e Anglo Nubiana) indicou que os animais brasileiros têm padrão genético definido por raça e não apresentam mistura genética com as raças exóticas. Demonstrou que a maioria dos animais locais apresentam sua estrutura genética preservada e poderão ser indicados para reprodução e uso em programas de conservação e melhoramento genético de caprinos nativos, visando à manutenção da máxima variabilidade genética dentro de cada raça e, entre raças, dentro da espécie. Esses resultados apontaram para relevância de conservar e utilizar essas raças como alternativa de produção viável para a caprinocultura do Brasil, pois cada raça apresenta composição genética distinta, conseqüentemente, potencial genético produtivo específico e, portanto, devem ser mais exploradas, a fim de que estas possam expressar seu real potencial genético.

PALAVRAS-CHAVE: Conservação, caprinos nativos, microsátélites, variabilidade genética..

GENETIC DIVERSITY OF SIX BRAZILIAN GOAT BREEDS

ABSTRACT: The goats are was introduced by the colonizers probably coming from the Iberian Peninsula around 1500. Native Brazilian goat breeds are mainly characterized by having relevant rusticity, being less susceptible to disease and better adapted to adverse environmental conditions in the region. These native goat breeds are found, to a greater extent, in the Northeast Region, where they are bred in extensive and semi-intensive systems and have productive purposes for meat, skin and milk, these skills may vary between breeds. A case study based on genetic information from six Brazilian goat breeds raised in the state of Piauí (Azul, Marota, Canindé, Moxotó, Repartida and Graúna) and compared with three specialized exotic breeds (Boer, Parda Alpina and Anglo Nubiana) indicated that Brazilian animals have a genetic pattern defined by breed and don't present genetic mixture with exotic breeds. It has shown that most local animals have their genetic structure preserved and may be indicated for reproduction and use in conservation programs and breeding of native goats, seeking to maintain maximum genetic variability within each breed and, between breeds, within species. These results pointed to the relevance of conserving and using these breeds as a viable production alternative for Brazilian goat farming, because each breed has a distinct genetic composition, consequently, specific productive genetic potential and, therefore, should be further explored, so that they can express its real genetic potential.

KEYWORDS: Conservation, native goats, microsatellites, genetic variability.

1 | INTRODUÇÃO

A criação de caprinos no Brasil teve início com animais oriundos da África, no período colonial, provavelmente, a partir das Ilhas de Cabo Verde inicialmente povoadas por animais provenientes de Portugal. O rebanho brasileiro, até meados dos anos 70, era constituído, principalmente, por animais sem raça definida (SRD)

e ecótipos nacionais (MACHADO, 2011). Assim, durante muito tempo, os animais sofreram processos de seleção natural e evoluíram para raças localmente adaptadas, especialmente ao semiárido da região Nordeste. Entretanto, com o intuito de aumentar a produtividade das novas raças, muitos criadores optaram por cruzamentos com raças exóticas, que foram introduzidas de forma indiscriminada e vêm contribuindo para a diluição do patrimônio genético das raças e ecótipos considerados nativos.

As raças de caprinos nativos do Brasil situam-se em evidência na Região Nordeste, na qual são criados em sistemas extensivo e semi-extensivo com aptidão para carne, pele e leite. Dentre as principais adaptações destacam-se a rusticidade e a sobrevivência ao *stress* hídrico da região semiárida e a menor susceptibilidade a doenças e parasitas (MENEZES et al., 2006; MACHADO, 2011). Moxotó, Nambi, Canindé, Repartida, Gurguéia, Marota, Graúna e Azul são exemplos de grupos genéticos caprinos encontrados no Nordeste (GONÇALVES JUNIOR, 2012).

A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), em 1991, iniciou um levantamento em nível mundial sobre a situação das principais espécies de animais domésticos (EGITO; MARIANTE; ALBUQUERQUE, 2002). Desde então, programas mundiais de conservação têm sido desenvolvidos em virtude da preocupação com a perda da diversidade genética devido a extinção de raças e populações. No caso dos caprinos brasileiros, devido à criação restrita a poucos rebanhos de conservação, considera-se que estes animais estão sob “risco desconhecido de extinção” e, portanto, precisam ser melhor investigados do ponto de vista científico pelo seu potencial para exploração e melhoramento genético.

O avanço nas discussões sobre a importância da conservação dos recursos genéticos no Brasil vem crescendo. O pensamento de que as raças pertencentes a outras nações eram sempre superiores às raças brasileiras vêm sendo minimizado a cada dia. Profissionais com maior consciência das suas competências científicas, já estão utilizando os recursos genéticos brasileiros como objeto de estudo, assim como uma alternativa viável para o aparecimento de uma raça mais produtiva e adaptada a realidade do ambiente em que o animal vive (LISBOA, 2008). Gonçalves Junior (2012) afirma que a preservação e o desenvolvimento das raças nativas passam por um novo *status* que alavanca esses animais a um patamar de reconhecimento de sua importância enquanto patrimônio genético nacional, a ser valorizado e preservado, impedindo que se percam no esquecimento e no desprestígio na imensidão dos sertões.

Existe um grande número de tecnologias da genética molecular que podem ser utilizadas para fornecer informações úteis aos programas de conservação e uso de recursos genéticos. A caracterização genética com o uso de regiões do DNA conhecidas como marcadores moleculares têm demonstrado ser uma ferramenta eficaz em estudos com caprinos no Brasil, tanto para a manutenção da identidade genética de raças nativas, como para a caracterização de indivíduos e/ou grupos de cabras sem raças definidas (OLIVEIRA, 2007). Um tipo de marcador molecular, chamado de

microsatélite, possibilita identificar a diversidade genética entre animais e raças que proporcionam maior eficiência a programas de acasalamentos. Estes marcadores são os mesmos utilizados rotineiramente para a execução de testes de paternidade e, por meio do estudo da genealogia dos animais, otimizam o sistema de criação e auxiliam os criadores na escolha de métodos mais adequados ao sistema de produção em que estes animais estão inseridos (CRISPIM, 2013). Com a disponibilidade de informação do DNA para vários locos espalhados ao longo do genoma animal, Forni, Aguilar e Misztal (2011), sugerem e mostram em suas pesquisas a possibilidade de medir a similaridade entre indivíduos e montar uma matriz de parentesco realizada com elementos que demonstram a verdadeira proporção de similaridade genética, sendo, portanto, mais precisa que as informações de pedigree. Portanto, com vistas a implementar programas de conservação, se faz necessária a utilização de técnicas que auxiliem a análise de parentescos e a identificação genética de indivíduos para direcionar os acasalamentos, visando a manutenção da diversidade genética (EGITO et al., 2005).

Neste capítulo, será apresentada a caracterização genética de seis raças de caprinos nativos (Azul, Canindé, Moxotó, Graúna, Repartida, e Marota), criadas no município de Elesbão Veloso, Piauí (Figura 1), a fim de auxiliar na manutenção da máxima variabilidade possível dentro de suas populações e a disponibilização destes recursos genéticos visando à conservação.

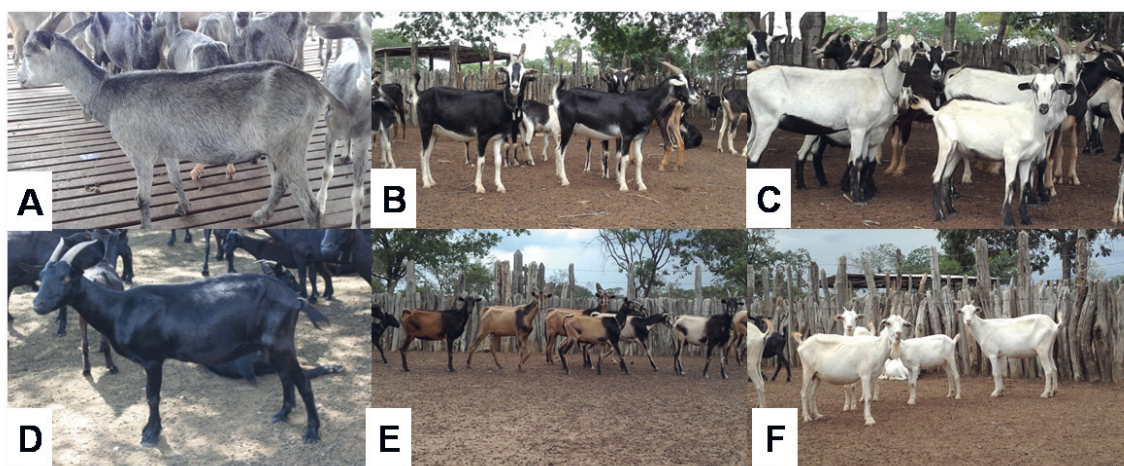


Figura 1. Caprinos nativos criados na Fazenda Faveira, Elesbão Veloso, Piauí. A – Caprino da raça Azul, B – caprino Canindé, C – caprino Moxotó, D – caprino Graúna, E – caprino Repartida, F – caprino Marota. Fonte: Vanessa dos Santos Neri.

2 | UM ESTUDO DE CASO NO INTERIOR DO PIAUÍ

Uma pesquisa de campo foi realizada na Fazenda Faveira, localizada no município de Elesbão Veloso a 06° 12' 07" S 42° 08' 25" O, onde há a criação de diversas raças nativas, as quais foram utilizadas para verificação do grau de pureza racial (Tabela 1).

Raça	Animais estudados	Grupo
Azul	26	Nativo
Canindé	30	Nativo
Moxotó	26	Nativo
Graúna	22	Nativo
Repartida	22	Nativo
Marota	28	Nativo
Anglo Nubiana	13	exótico
Parda Alpina	19	exótico
Boer	11	exótico
TOTAL	197	—

Tabela 1. Efetivo de animais das raças de caprinos nativos e exóticos criados em uma fazenda localizado no estado do Piauí

Amostras de sangue foram coletadas e o DNA foi isolado para serem avaliados nove locos gênicos do tipo microssatélite (NRA006, ILST019, INRA23, INRA63, OARFCB304, BM1329, TGLA122, OARFCB48 e MM12). Essas regiões genômicas foram utilizadas por recomendações da FAO (2004) para estudo de diversidade genética em animais domésticos.

As análises do DNA mostraram que as raças nativas presentes na Fazenda Faveira compõem um grupo bem estruturado geneticamente. Na Figura 2, podemos observar os resultados das análises Bayesianas de *Admixture*. Cada cor representa um grupo genético distinto e, portanto, pode ser constatado que todas as raças nativas estudadas estão representadas por uma cor diferente.

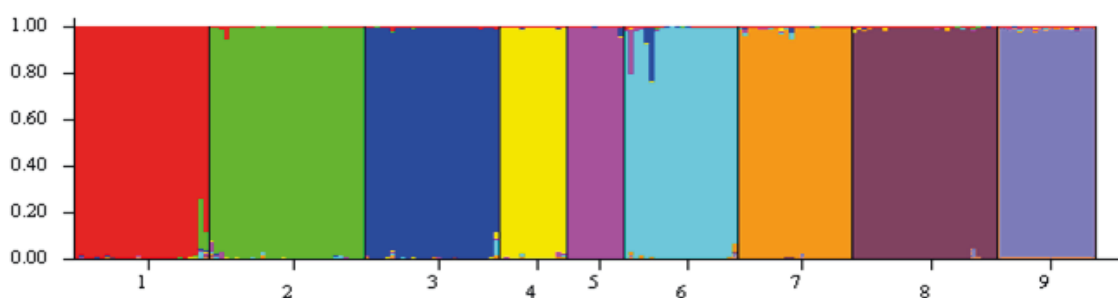


Figura 2. Estrutura populacional de 197 indivíduos representando nove grupos com base em nove marcadores de microssatélites. As cores mostradas na figura indicam a formação de grupos genéticos distintos. Cada grupo está representado por uma cor específica. 1 – Azul, 2 – Canindé, 3 – Moxotó, 4 – Anglo Nubiana, 5 – Boer, 6 – Graúna, 7 – Repartida, 8 – Marota e 9 – Parda Alpina.

As análises permitem compreender a estrutura genética entre os grupos estudados utilizando um modelo Bayesiano que identifica grupos genéticos que compartilham alelos em frequências semelhantes. O presente estudo indicou uma tendência a existir 9 grupos genéticos distintos formados a partir de suas relações genéticas. Os animais destacados com setas brancas apresentaram indícios de

mistura (Figura 3).

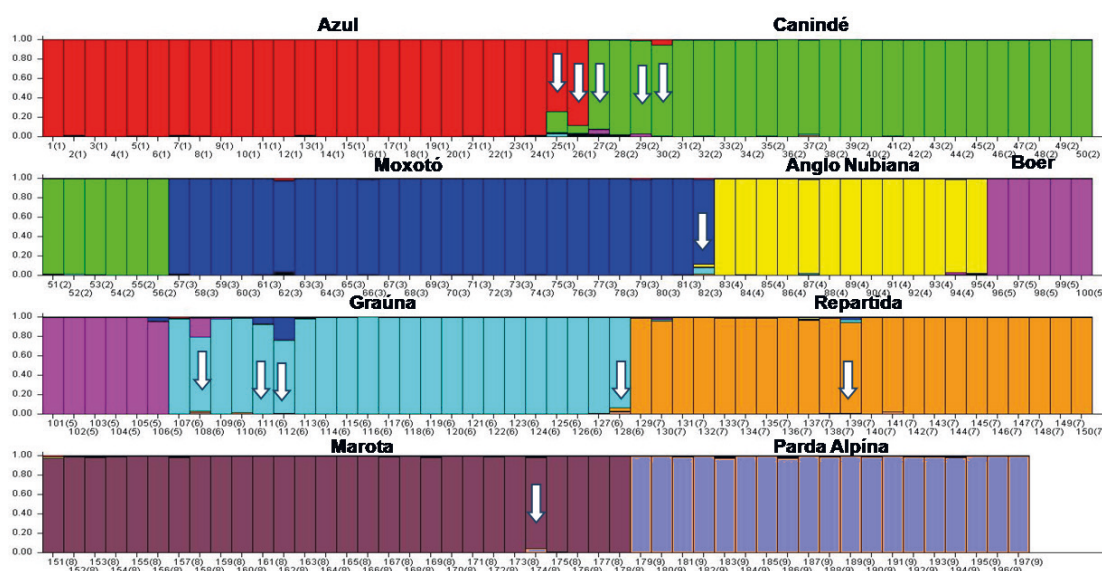


Figura 3. Análise genética de nove raças de caprinos de uma fazenda por indivíduo. As cores mostradas na figura indicam a formação de grupos genéticos distintos. Cada grupo está representado por uma cor específica.

Também foram avaliados os níveis de diversidade genética dentro destas raças. A variabilidade é um fator de extrema importância para se estabelecer programas de melhoramento. Foi constatado que as informações genéticas encontradas nos animais foram altamente variáveis, sendo uma evidência da diversidade genética encontradas nestes rebanhos (Tabela 2).

Dentre as medidas de diversidade genética mais adotadas no campo científico, podemos citar o número médio de alelos efetivos que é uma medida usada para caracterizar a extensão da diversidade genética em uma população. Outra medida é a Heterozigosidade em que pode-se comparar valores observados (H_o) com valores esperados (H_e), de acordo com princípios genéticos. A estimativa varia de 0 a 1, sendo que valores próximos a zero indicam baixa diversidade, enquanto valores próximos a 1 indicam alta diversidade. A Tabela 2 expõe que todos os valores mostrados para esta estimativa foram superiores a 95%, evidenciando que as populações da Fazenda Faveira são um importante repositório genético para as raças consideradas devido sua alta diversidade. O índice de fixação de *Wright* ou coeficiente de endogamia estima a consanguinidade na população baseada nos valores de heterozigosidades observada e esperada. Nesse estudo, todos os índices F das populações apresentaram valores negativos, sugerindo que não há problemas acasalamento entre parentes nas amostras avaliadas. Todas as raças estudadas apresentaram desvio do Equilíbrio de *Hardy-Weinberg*. Os desvios de EHW podem ser devido a diversos fatores como subdivisões dentro das populações, antepassados comuns, seleção natural ou artificial, migração ou fluxo de genes a partir de uma população externa, além da presença de alelos nulos.

POPULAÇÃO	N ¹	Ne ²	Ho ³	He ⁴	Valor de P ⁵	F ⁷
Azul	23,889	9,096	0,888	0,863	*	-0,041
Canindé	27,889	9,506	0,952	0,869	*	-0,103
Moxotó	24,333	9,213	0,931	0,875	*	-0,065
Anglonubiana	12,556	8,605	0,914	0,855	0.0032	-0,064
Boer	10,667	7,260	0,980	0,815	0.0021	-0,238
Graúna	20,667	9,386	0,961	0,873	*	-0,103
Repartida	18,778	8,778	0,969	0,880	0.0000	-0,103
Marota	26,778	10,932	0,955	0,897	*	-0,064
Parda alpina	17,333	9,087	0,915	0,859	*	-0,073
TOTAL	20,321	9,096	0,940	0,865	-	-0,095

Tabela 2. Estimativas de diversidade genética por população em 197 amostras de DNA de caprinos

¹Número médio de alelos por *locus*. ²Número médio de alelos efetivos. ³Heterozigosidade observada. ⁴Heterozigosidade esperada. ⁵Locus em desequilíbrio (P menor que 0,05). ⁶*Desequilíbrio de *Hardy-Weinberg* altamente significativo. ⁷Índice de fixação de *Wright* [1-(Ho/HE)].

A Análise de Variância Molecular (AMOVA) demonstrou que a variância entre populações representou apenas 4% da variação total (Tabela 3). Aponta que as raças possuem similar composição gênica, resultado esperado, pois essas raças pertencem a mesma espécie (*Capra hircus*). Contudo, as combinações gênicas variaram entre os indivíduos da mesma raça, logo a maior parte da variabilidade genética está uniformemente distribuída dentro das raças, ou seja, a variação se concentra nos indivíduos que as compõe (96%), resultado desejado quando se trabalha com raças nativas, para fins de conservação, pois demonstra que os indivíduos que pertencem as mesmas, possuem combinações gênicas variadas, o que justifica a campo esses tipos de animais expressarem características produtivas e reprodutivas distintas dentro da mesma raça e, esse comportamento, é a riqueza genética de uma raça nativa, indicando a não tendência de pressão de seleção artificial sobre esses animais.

Fontes de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadra-do médio	Componentes de variação	Porcentagem (%)	F (valor p)
Entre raças	8	96,606	12,076	0,182	4%	0,043 ⁽¹⁾ (0,001)
Entre indivíduos	188	785,013	4,176	0,121	3%	0,030 ⁽²⁾ (0,001)
Dentro de indivíduos	197	775,000	3,934	3,934	93%	0,072 ⁽³⁾ (0,001)
Total	393	1656,619		4,237	100%	

Tabela 3. Estatísticas da análise de variância molecular (AMOVA), utilizando 9 *loci* de microssatélites em populações de raças caprinas da fazenda Faveira, Elesbão Veloso – PI.

⁽¹⁾Fst, índice de fixação entre populações. ⁽²⁾Fit, índice de fixação entre indivíduos. ⁽³⁾Fis, índice de fixação dentro de indivíduos.

Numa análise individual da composição gênica de cada animal, observou-se que a maioria dos animais estão com material genético preservado, contudo, existem alguns animais com indício de mistura genética entre raças (embora em pequenas proporções) (Figura 3). Deste modo, recomenda-se que seja evitada a utilização dos indivíduos com indícios de mistura de raças como reprodutores ou matrizes.

3 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os caprinos criados na Fazenda Faveira são caracterizados como geneticamente puros e estão sendo preservados. Os indivíduos sem misturas de raças podem ser indicados para programas de conservação visando à manutenção da máxima variabilidade genética e esses mesmos animais podem ser candidatos a um programa de melhoramento genético intra raça.

4 | AGRADECIMENTOS

Ao Sr. José Dantas, proprietário da Fazenda Faveira, por disponibilizar os animais e pelo apoio logístico ao Grupo de Estudos em Melhoramento Genético Animal (GEMA/UFPI).

Universidade Federal do Piauí pelo suporte e apoio.

À CAPES e ao CNPq pelo fomento a esta pesquisa.

REFERÊNCIAS

CRISPIM, B. A. do. **Diversidade genética em ovinos naturalizados do Pantanal Sul-matogrossense**. 2013, 77p. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral/Bioprospecção) - Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais., Dourados, MS, 2013.

EGITO, A. A.; MARIANTE, A. S.; ALBUQUERQUE, M. S. M. Programa brasileiro de conservação de recursos genéticos animais. **Arquivos de Zootecnia**, v. 51, p. 39-52, 2002.

EGITO, A. A. et al. Desempenho de marcadores de DNA para determinação de parentesco na raça bovina Pantaneira. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42, 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: SBZ, 2005.

FORNI, S.; AGUILAR, I.; MISZTAL, I. Different genomic relationship matrices for single-step analysis using phenotypic, pedigree and genomic information. **Genetics Selection Evolution**, v. 43, n. 1, 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Secondary guidelines for development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans: Measurement of Domestic Animal Diversity (MoDAD): Recommended Microsatellite Markers**. Rome: FAO, 2004. 58p.

GONÇALVES JUNIOR, O. Entre nativos e exóticos: a mestiçagem na construção de uma nova identidade na caprinovinocultura dos sertões. **Revista IDEAS – Interfaces em Desenvolvimento, Agricultura e Sociedade**, Rio de Janeiro – RJ, v. 5, n. 2, p. 89 - 117, 2012.

LISBOA, A. C. C. **Características da Carcaça de Caprinos das Raças Canindé e Moxotó Criados em Confinamento e Alimentados com Dietas Contendo Dois Níveis de Energia**. 2008, 65p.

Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Zootecnia) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

MACHADO, T. M. M. História das raças caprinas no Brasil. In: Fonseca, J. et al. (ed.) **Produção de caprinos e ovinos de leite**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite; Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2011, p.27-74.

MENEZES, M. P. C. et al. Caracterização genética de raças caprinas nativas brasileiras utilizando-se 27 marcadores microssatélites. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1336-1341, 2006.

OLIVEIRA, J. D. **Origem, distribuição e relação genética entre populações de *Capra hircus* do Nordeste do Brasil e suas relações com populações do Velho Mundo**. 2007. Tese (Universidade de São Paulo, Faculdade de medicina de Ribeirão Preto). Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 2007.

SOBRE OS ORGANIZADORES

Profa. Dra. Magnólia de Araújo Campos - Possui graduação em Licenciatura Plena em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual da Paraíba (1989), com Mestrado em Agronomia/Fitomelhoramento pela Universidade Federal de Pelotas (1995) e Doutorado em Ciências Biológicas/Biologia Molecular pela Universidade de Brasília (2002). Pós-Doutorado em Genômica pelo Centro de Citricultura Sylvio Moreira, IAC, Brasil. (2003-2005) e Genética Molecular e de Microorganismos pela Universidade Federal de Lavras (2005-2008). Desde maio de 2008 é Professora da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), onde coordenou a Criação e do Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos no Centro de Desenvolvimento do Semiárido (CDSA, Campus de Sumé). Atualmente desenvolve atividades no Centro de Educação e Saúde (CES, Campus Cuité), onde é Coordenadora da Criação e do Curso de Mestrado Acadêmico em Ciências Naturais e Biotecnologia do CES/UFCG. É Coordenadora do Laboratório de Biotecnologia do CES e do Grupo de Pesquisa Biotecnologia Aplicada ao Semiárido. Tem experiência em Cultura de Tecidos Vegetais, Transgenia de Plantas, Marcadores Moleculares, Bioinformática, Genômica, Expressão Heteróloga *in vitro* de Proteínas Antimicrobianas, Biologia Molecular Vegetal e de Microorganismos. É editora acadêmica da editora internacional de livros científicos IntechOpen.

Prof. Dr. Rafael Trindade Maia - Possui Graduação em Licenciatura Plena em Ciências Biológicas pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (2005), mestrado em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva pelo Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (2008) e doutorado em Biologia Animal pela Universidade Federal de Pernambuco (2013). Atualmente é professor do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido (CDSA) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Tem experiência com genética de populações, bioinformática, docking molecular, modelagem e dinâmica molecular de proteínas. Atua na área de ensino de ciências e biologia. Lidera os grupos de pesquisa Biologia Computacional e Teórica (BCT) e Ensino de Ciências e Biologia (ECB). É editor acadêmico do periódico Asian Journal of Biotechnology and Genetic Engineering e da editora internacional de livros científicos IntechOpen.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Amazônia 1, 3, 30, 31, 32, 39, 40, 41, 49, 59, 78, 79, 80, 81, 83, 84, 85, 87, 97

Aspectos reprodutivos 1, 2, 3

Atenuante 59

B

Balu 50, 51, 53, 54, 55, 56

Biodiversidade 38, 48, 78, 79, 80, 82, 84, 85, 87

Biometria 30, 37

Biotécnica 71

Biotecnologia 22, 30, 39, 71, 78, 79, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 97

C

Caprinos nativos 88, 89, 90, 91, 92

Caracteres 13, 14, 15, 16, 17, 18, 23, 24, 25, 26, 28, 35, 43, 46, 53, 57

Caracterização polínica 1, 2

Conservação 3, 10, 25, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 89, 90, 91, 94, 95, 97

Criopreservação de gametas 71, 72, 82

Cupuaçuzeiro 1, 2, 3, 11, 85

D

Déficit hídrico 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 64

Descritores morfológicos 12, 13

Distância genética 12, 13, 14, 15, 16, 18, 20, 31, 34, 45

Divergência genética 15, 17, 30, 31, 32, 33, 36, 37, 38, 39, 41, 42, 44, 46, 47, 48, 49

Down 50, 51, 53, 54, 55, 56

E

Estresse 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 62, 63, 64, 65, 67, 73

Estresse hídrico 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 64, 65

G

Gestação assistida 71

H

Híbridos 25, 29, 30, 31, 32, 34, 36, 41, 46, 47, 49, 50, 52, 53, 54, 56

I

Índice meiótico 1, 2, 3, 4, 6, 8, 9, 10

L

Landraces 24

M

Mahalanobis 15, 30, 31, 33, 34, 35, 36, 37, 39, 40, 42, 45, 46, 48

Melhoramento de plantas 23, 24, 32, 84, 85

Microssatélites 12, 15, 19, 20, 81, 85, 89, 92, 94, 96

Milho 21, 23, 24, 25, 26, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 62, 66, 68

Milho crioulo 23, 25, 26, 28, 29

N

Nitrogênio 32, 36, 38, 40, 41, 48, 49, 58, 62, 64, 66, 72, 74, 82

P

Produtividade 3, 8, 10, 23, 25, 28, 29, 30, 31, 32, 35, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 47, 52, 53, 56, 57, 59, 62, 63, 67, 78, 85, 90

Proteção de cultivares 12, 13, 14, 21

S

Seleção de híbrido 50

Silício 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 70

T

Theobroma grandiflorum 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 85

Trigo 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 65, 66

Triticum aestivum 12, 13, 22

U

Uso sustentável 78, 79

V

Variabilidade 5, 21, 26, 28, 30, 31, 33, 36, 38, 40, 49, 81, 85, 87, 89, 91, 93, 94, 95

Variabilidade genética 21, 28, 31, 33, 38, 49, 81, 85, 87, 89, 94, 95

Viabilidade polínica 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 18, 19, 21, 22

Z

Zea mays 24, 29, 37, 40, 58

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-719-2



9 788572 477192