

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**

**ANÁLISE GENÉTICA MOLECULAR DE LINHAGENS DE
MAMONEIRA PARA OBTENÇÃO DE HÍBRIDOS VIA
CRUZAMENTOS DIALÉLICOS**

HELISON SANTOS BRASILEIRO

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
JANEIRO - 2019**

ANÁLISE GENÉTICA MOLECULAR DE LINHAGENS DE MAMONEIRA PARA OBTENÇÃO DE HÍBRIDOS VIA CRUZAMENTOS DIALÉLICOS

HELISON SANTOS BRASILEIRO

Engenheiro Agrônomo

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2009

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Ciências Agrárias (Área de Concentração: Melhoramento Genético).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Simone Alves Silva

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Edna Lobo Machado

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

JANEIRO – 2019

FICHA CATALOGRÁFICA

B823a Brasileiro, Helison Santos.
Análise genética molecular de linhagens de mamoneira para obtenção de híbridos via cruzamentos dialélicos / Helison Santos Brasileiro._ Cruz das Almas, BA, 2018.
69f.; il.

Orientadora: Simone Alves Silva.
Coorientadora: Edna Lobo Machado.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas.

1.Mamona – Cultivo. 2.Mamona – Melhoramento genético. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.
II.Título.

CDD: 633.85

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas – UFRB.
Responsável pela Elaboração – Antonio Marcos Sarmiento das Chagas (Bibliotecário – CRB5 / 1615).
Os dados para catalogação foram enviados pelo usuário via formulário eletrônico.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**

**ANÁLISE GENÉTICA MOLECULAR DE LINHAGENS DE
MAMONEIRA PARA OBTENÇÃO DE HÍBRIDOS VIA
CRUZAMENTOS DIALÉLICOS**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE
HELISON SANTOS BRASILEIRO**

Realizada em 31 de Julho de 2018

Prof^a. Dr^a. Simone Alves Silva
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Examinador Interno (Orientadora)

Prof^o. Dr^o. Ricardo Franco Cunha Moreira
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Examinador Interno

Dr^o. Ciro Ribeiro Filadelfo
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Examinador Interno

Prof^o. Dr^o. Rogério Mercês Ferreira Santos
Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS
Examinador Externo

Prof^a. Dr^a. Vanessa de Oliveira Almeida
Faculdade Maria Milza – FAMAM
Examinador Externo

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Carlos Maria Brasileiro (*in memoriam*) e Edelvita Carvalho de Souza (*in memoriam*), que sempre priorizaram a minha formação acadêmica e me incentivaram; As minhas queridas filhas: Camila Leite Bispo Brasileiro e Carolina Leite Bispo Brasileiro pela singela demonstração do amor.

AGRADECIMENTOS

Registro aqui meus sinceros agradecimentos primeiramente ao Deus pai todo poderoso e o seu filho Cristo Jesus. Agradeço também as seguintes instituições e pessoas, sem as quais o presente trabalho não teria sido desenvolvido:

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

Ao Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO) pelo apoio durante o desenvolvimento da pesquisa.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa.

A Petrobrás biocombustível e Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustível (ANP) pelo apoio financeiro necessário no desenvolvimento deste trabalho.

Especialmente a Prof^a. Dr^a. Simone Alves Silva pela orientação, paciência, oportunidade, confiança, preocupação e principalmente a amizade construída ao longo desses anos, pois além de ser uma profissional extraordinária é muito humana, saio com uma contribuição significativa para o meu desenvolvimento e crescimento profissional!

A minha coorientadora Prof^a. Dr^a. Edna Lobo Machado, por toda contribuição, preocupação e presteza sempre que necessitei!

A todos os professores do curso que contribuíram para meu crescimento científico, intelectual e profissional!

A banca examinadora, pelo auxílio na conclusão desta pesquisa!

Um agradecimento especial aos meus pais Carlos (*in memorian*) e Edelvita (*in memorian*) por serem vencedores em suas trajetórias de vida, por me darem educação em todos os sentidos, moral e acadêmico, por cuidarem de mim com tanto zelo e dedicação. Muitíssimo obrigado!

As minhas queridas e amadas filhas Camila e Carolina que com todas as adversidades, são sempre minha fonte de força e inspiração;

Ao meu amor, Carla Patrícia, que apareceu num momento muito difícil da minha vida, e em tão pouco tempo conseguiu se tornar uma pessoa tão importante e especial a mim! Meu muito obrigado!

A Laís e Lorena minhas “segundas filhas” por assim dizer, que me acolheram tão bem e com tanto respeito, e por quem tenho um carinho especial, muito obrigado!

Registro também o reconhecimento aos amigos do NBIO pela troca de conhecimento e experiências em todo período do doutorado e pelos bons momentos de convivência em especial: Elísio, Luís Fernando, Gean, Paulo, Alife, Sávio, Gilmara. Meu muito obrigado!

Aos grandes amigos do Laboratório: Simone, Laurenice, Ciro e Rogério pela grande atenção e contribuição dada.

A todos que aqui não foram mencionados, mas que de forma direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.”

(Theodore Roosevelt)

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
REFERENCIAL TEÓRICO	1
ARTIGO 1	
LINHAGENS POLIMÓRFICAS DE <i>RICINUS COMMUNIS</i> L. IDENTIFICADAS POR MARCADORES MOLECULARES SSR	22
ARTIGO 2	
GERAÇÃO DE HÍBRIDOS POR MEIO DE CRUZAMENTO DIALÉLICO EM LINHAGENS CONTRASTANTES E SUPERIORES DE MAMONEIRA	39
CONSIDERAÇÕES FINAIS	59

ANÁLISE GENÉTICA MOLECULAR DE LINHAGENS DE MAMONEIRA PARA OBTENÇÃO DE HÍBRIDOS VIA CRUZAMENTOS DIALÉLICOS

Autor: Helison Santos Brasileiro

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Simone Alves Silva

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Edna Lobo Machado

RESUMO: O melhoramento genético tem grande importância no potencial produtivo de diversas espécies. Os marcadores moleculares do tipo SSR são ferramentas de alta relevância nos estudos de polimorfismos alélicos em alto grau, sendo de fundamental importância essa análise na seleção de linhagens para obtenção de novos híbridos por meio de cruzamentos dialélicos. Sendo assim, foi avaliada uma população F6 de mamoneira do programa de melhoramento genético da UFRB/NBIO, por meio de marcadores SSR, com o objetivo de identificar alelos polimórficos em linhagens superiores de mamoneira oriundas de uma população avançada (F6), para caracteres de importância agrônômica, realizando cruzamentos dialélicos em busca das melhores combinações para a formação de híbridos, e posteriormente o desenvolvimento de pares de primers para PCR quantitativa. Os caracteres fenotípicos avaliados para obtenção da capacidade geral de combinação (CGC) e a capacidade específica de combinação (CEC) foram: (FLOR) N^o de dias da germinação ao florescimento (EST) Estatura, (NSP) Número de sementes por planta, (PSP) Peso de semente por planta, (P100) Peso de 100 sementes, (NFP) Número de frutos por planta, (PFP) Peso de frutos por planta e (PROD) Produtividade.

Palavras-chave: mamoneira, marcadores SSR, caracteres fenotípicos

MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF CASTOR BEAN LINES TO OBTAIN HYBRIDS VIA DIALLEL CROSSES

Author: Helison Santos Brasileiro

Advisor: Profa. Dr. Simone Alves Silva

Co-Advisor: Dr. Edna Lôbo Machado

ABSTRACT: Genetic improvement has great importance in the productive potential of several species. The molecular markers of the SSR type are highly relevant tools in the studies of allelic polymorphisms in high degree, being of fundamental importance this analysis in the selection of lineages to obtain new hybrids through diallel crosses. Thus, a F6 castor population of the UFRB / NBIO genetic breeding program was evaluated using SSR markers to identify polymorphic alleles in upper castor lines from an advanced population (F6) for agronomic importance, performing diallel crosses in search of the best combinations for the formation of hybrids, and later the development of pairs of primers for quantitative PCR. The phenotypic traits evaluated to obtain the general combining ability (CGC) and the specific combining ability (CEC) were: (FLOR) Number of days from germination to flowering (EST) Stature, (NSP) Number of seeds per plant, (PSP) Seed weight per plant, (P100) Weight of 100 seeds, (NFP) Number of fruits per plant, (PFP) Fruit weight per plant and (PROD) Productivity.

Key words: castor bean, SSR markers, phenotypic characters

REFERENCIAL TEÓRICO

Origem, aspectos botânicos e morfológicos da mamoneira

A mamona (*Ricinus communis* L.) é uma planta oleaginosa arbustiva que tem sua origem bastante controversa. No entanto, alguns pesquisadores sugerem o continente asiático como provável centro de origem; outros consideram a África intertropical. Porém, a hipótese mais aceita é que esta cultura seja originária do Nordeste da África, mais precisamente da Etiópia, antiga Abissínia (HEMERLY, 1981; VEIGA et al., 1989; BELTRÃO et al., 2001; OLSNES, 2004).

No Brasil, conhece-se a espécie sob denominação de mamoneira, rícino, carrapateira, enxerida e palma-de-cristo; na Inglaterra e nos Estados Unidos, pelo nome de *castor bean* e *castor oil seed*, enquanto na Alemanha é conhecida como *wunder baum*, na Espanha, *higuerilla*, *higuerete*, *palma Christi*, *higuera* e *tártago*, o que mostra sua grande dispersão (ALMEIDA; CÁNECHIO FILHO, 1973); (BELTRÃO et al., 2001). É cultivada comercialmente em mais de 15 países de climas tropicais e subtropicais, destacando-se a Índia, China e o Brasil (AZEVEDO et al., 2007).

É uma planta pertencente à família Euphorbiaceae e ao gênero monotípico, ou seja, é a única espécie do gênero *Ricinus*. Na classificação botânica, a espécie *R. communis* é considerada politípica e é dividida em seis subespécies e 25 variedades botânicas que têm áreas de ocorrências individuais ou sobrepostas, diferindo não só morfológicamente, mas também genética e ecologicamente (MOSHKIN, 1986).

A mamoneira apresenta crescimento do tipo indeterminado com floração e frutificação contínua e sequencial ao longo do seu ciclo, com racemos apresentando proporções variadas de flores femininas e masculinas. Havendo disponibilidade de água e nutrientes, a planta cresce continuamente numa disposição simpodial, que lhe é peculiar (SAVY FILHO, 2005). A característica de crescimento de plantas de mamona tem efeitos diretos em sua maturação, que é desuniforme, pois enquanto os primeiros racemos encontram-se maduros, existem outros ainda em formação (MOSHKIN, 1986), não havendo determinação do período vegetativo, nem do reprodutivo. O desenvolvimento de ramificações secundárias e terciárias pode variar em função do material genético utilizado, do nível de competição entre plantas em

função da densidade, do arranjo de plantas no ambiente de cultivo (SORATTO et al., 2011; SOUZA-SCHLICK et al., 2011), entre outros.

Quanto ao sistema reprodutivo, a mamoneira é considerada do tipo misto, pois ocorre tanto autofecundação dos racemos monóicos, como cruzamentos naturais. Alguns autores consideram como autógama com altas taxas de alogamia.

A autofecundação é o processo que leva ao grau mais intenso de endogamia, sendo este evento observado, comumente, nas plantas que possuem flores completas, apresentando simultaneamente órgãos masculinos e femininos, como é o caso da mamoneira. A endogamia em plantas é o efeito do cruzamento natural ou artificial entre indivíduos relacionados por ascendência, ou seja, que possuem certo grau de parentesco entre si (MAIA et. al., 2008).

Por conseguinte, a autofecundação aumenta a homozigose média das plantas e pode acarretar um efeito conhecido como “depressão endogâmica”. A depressão, propriamente dita, é uma diminuição na expressão de caracteres quantitativos, em decorrência do aumento da homozigose causada pela endogamia (MIRANDA, 2001).

Em mamoneira há poucos estudos sobre o assunto com opiniões contraditórias. De acordo Gurgel (1945), a autofecundação em plantas de mamoneira favorece a homozigose, aumentando a homogeneidade, sem perda de vigor. Segundo Moreira et al. (1996), em virtude do sistema reprodutivo da mamoneira ser caracterizado pela ocorrência simultânea de autofecundação e de cruzamento natural em condições naturais, a autofecundação contínua não acarreta perda de vigor da mamoneira.

No entanto, Krieger et al., (2006) verificaram redução da produtividade em 10% com uma geração de autofecundação em uma população de polinização livre. Costa (2006) verificou efeitos gênicos aditivos para características altura de planta, potencial produtivo, comprimento efetivo do racemo primário, teor de óleo, número de racemos por planta e precocidade em análise dialélica de cruzamentos interpopulacionais.

Aspectos Econômicos

Segundo Azevedo e Beltrão (2007), no período compreendido entre 1978 e 2004, a Índia, China e o Brasil se mantiveram como os principais produtores mundiais de mamona em baga, tanto em termos de área colhida quanto em quantidade produzida. A partir de 1978, observa-se forte declínio da lavoura da mamona e o Brasil passa a ocupar a segunda posição. No final da década de 1980 e durante toda a década de 1990, a produção e área colhida continuaram em decadência e o país passou a ocupar a terceira posição, ficando atrás da Índia e da China (BARROS, 2005).

A diminuição do plantio e da produção no Brasil se deu principalmente às dificuldades de relacionamento comercial entre a indústria e o agricultor, a falta de tecnologia e incentivo e por carência de dados científicos que auxiliem nos sistemas adequados de plantio, aliado às deficiências climáticas ocorridas na Bahia neste período (SAVY FILHO, 2005).

A importância da cultura da mamona teve seu retorno, com as especulações acerca do óleo extraído de sementes e sua aplicação como combustível de origem renovável, o “biodiesel”. Com o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel, que autorizou a adição de 2% de biodiesel (B2) ao diesel em 2005, diversos estados do Nordeste tiveram grande incentivo do governo federal para a expansão da produção de mamona, embasada principalmente na agricultura familiar (SAVY FILHO, 2005). Esses programas de incentivo à produção de oleaginosas têm como objetivo a expansão das áreas de cultivo da mamona no Brasil, não só na região Nordeste, mas também nas regiões Centro Oeste, Sudeste e até mesmo Sul do país, o que leva a concluir que o desenvolvimento de novos genótipos, adaptados a cada uma das regiões, serão indispensáveis para o sucesso da cultura.

No Nordeste do país a Bahia é o carro chefe na produção dessa oleaginosa, como mostra os dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) (Figura 1), da safra de 1999/2000 até a safra de 2016/2017 em (mil ton.ha⁻¹). Pode-se observar no gráfico que nos anos agrícolas de 1999/00 até 2010/11 a safra manteve-se estável com uma média aproximada de 140 mil toneladas. De acordo com as estimativas da CONAB, a Índia é o maior produtor mundial de mamona, com mais de 1.600.000 toneladas na safra 2012, colocando-se bem acima da produção

chinesa de 170 mil toneladas, à moçambicana com 62 mil toneladas e da produção brasileira que despencou após mais um ano de seca, atingindo pouco menos de 25 mil toneladas em média. As últimas safras nos anos agrícolas de 2015/16 e 2016/17 tiveram um decréscimo ainda maior.

No norte de Minas Gerais e no vale do Jequitinhonha de acordo o site www.em.com.br cerca de 10 mil pequenos produtores de 50 municípios assinaram contratos com a Petrobras, visando o cultivo de mamona, alcançando 30 mil hectares plantados. Porém, como não foi viável o uso da matéria-prima, dentro de pouco tempo, os agricultores se viram obrigados a parar de plantar a oleaginosa, por não terem para quem vender a produção. Os últimos plantios de mamona da região foram feitos na safra 2015/2016, quando a Petrobras suspendeu de vez a compra da oleaginosa dos pequenos agricultores.

Ainda de acordo levantamento da CONAB, as lavouras de mamonas para biodiesel apontam um recuo do plantio em todo país da ordem de 11,9% na safra 2016/2017 (28 mil hectares cultivados) em relação à anterior. “Em Minas, desmotivados pelo insucesso do programa de biodiesel, poucos agricultores cultivam mamona, mais precisamente na região Norte do estado, visto que as áreas remanescentes têm sua produção destinada à indústria rícino química”, como descreve relatório da CONAB. Apenas dois municípios ainda contam com as áreas plantadas da espécie, mas com o registro de perdas de 66,7% na produção. Além da seca em várias regiões do Brasil, esse é um dos motivos para a queda de produção no último triênio.

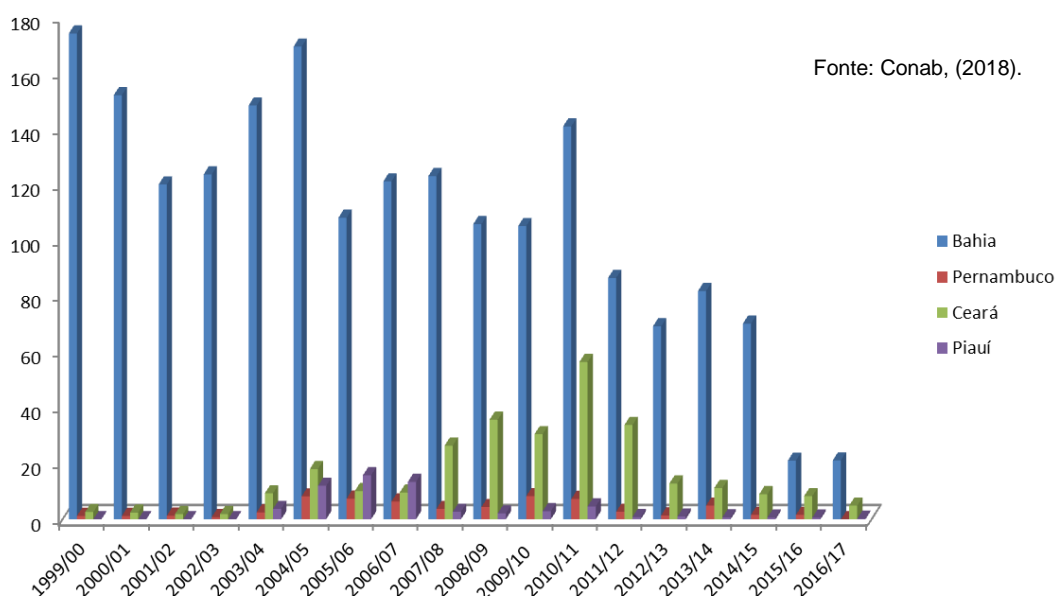


Figura 1- Levantamento das safras de mamona desde o ano agrícola de 1999/00 até 2016/17 em (mil ton.ha⁻¹), de acordo levantamento da CONAB.

Melhoramento genético

Com o lançamento de cultivares com grande potencial produtivo, ciclo precoce e porte reduzido (SAVY FILHO et al., 2007), a cultura da mamona vem chamando a atenção de produtores de médio e grande porte, como uma possível opção para o cultivo em safrinha, época em que a escassez de chuvas limita o desenvolvimento de culturas mais sensíveis à falta de água (SAVY FILHO, 2005). Para proporcionar a entrada da cultura da mamona em sistemas de cultivo de grande escala, é necessário o desenvolvimento de novas tecnologias, possibilitando que o máximo potencial produtivo da cultura seja alcançado.

Um dos principais objetivos do melhoramento genético da mamoneira é a obtenção de cultivares mais produtivas, com porte reduzido, precoces e com elevados teores de óleo (PASSOS, 2009). No Brasil o melhoramento da mamoneira teve início na década de 30 no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), em São Paulo. A contribuição deste órgão para o melhoramento da espécie permitiu o lançamento de cultivares como Zanzibar, Sanguínea, IAC 38, Campinas, Guarani, IAC 80 e IAC 226 (SAVY FILHO, 1999; FREIRE et al., 2001; MYCZKOWSKI, 2003; BELTRÃO, 2004).

Na Bahia, o melhoramento da cultura começou na década de 60 pelo Instituto de Pesquisa e Experimentação Agropecuária do Leste (IPEAL), localizado em Cruz das Almas. A partir da década de 70 passou a ser conduzido pela Empresa de Pesquisa Agropecuária da Bahia – EPABA, até esta ser transformada no Centro de Mandioca e Fruticultura da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa). A partir da década de 80 o melhoramento da mamoneira no Estado passou a ser conduzido pela Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola – EBDA, com sede no município de Itaberaba.

Durante todo o período de pesquisa foram desenvolvidas e lançadas várias cultivares no Brasil, dentre as quais: Sipeal 1, Sipeal 2, Sipeal 3, Sipeal 4, Sipeal 5, Sipeal 6, Sipeal 7, Sipeal 9, Sipeal 13, Sipeal 19, Sipeal 25, Sipeal 28 e Epaba 2 (SAVY FILHO, 1999; FREIRE et al., 2001; MYCZKOWSKI, 2003; BELTRÃO, 2004).

Segundo estes autores essas cultivares se destacam por apresentar características importantes tais como: aumento de produtividade, aumento do teor de óleo na semente, diminuição do porte da planta, o que facilita a colheita mecânica, diminuição do grau de deiscência do fruto a fim de evitar o desperdício no campo e proporcionar um menor número de colheitas e aumento do nível de resistência a algumas das principais doenças que ocorrem no país.

Visando obter materiais superiores de mamoneira para regiões de baixa altitude e para o semiárido da Bahia, no ano de 2005, o Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO), pertencente à Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), localizada em Cruz das Almas, Bahia, iniciou seus trabalhos com a introdução de cultivares (BAHIA et al., 2008; CERQUEIRA, 2008; SILVA, 2008, SAMPAIO FILHO, 2009; DIAMANTINO, 2013), por processos de hibridações (PASSOS et al., 2010), por condução de população segregantes e autofecundações para avanços de gerações (OLIVEIRA, 2011) com desenvolvimento de linhagens homozigotas na geração F6 com presença de alta variabilidade genética e ganhos genéticos com a seleção, envolvendo avaliações moleculares (MACHADO, 2011, MACHADO e SILVA 2013, BRASILEIRO, 2014) e morfoagronômicas, seguido de seleção de linhagens elites (SANTOS, 2013).

Marcadores Microssatélites

Marcadores microssatélites, também conhecidos como SSR (*Simple Sequence Repeat*), são sequências genômicas repetidas lado a lado (em *tandem*). Tais sequências são denominadas motivos de repetição, podendo apresentar, geralmente, de um a seis nucleotídeos repetidos. O número de vezes em que o motivo se repete em cada região microssatélite é devido principalmente a mutações que ocorrem durante a replicação do DNA. Essas mutações são conhecidas como *slippage*, em que a enzima DNA-polimerase gera sequências diferentes ao adicionar ou deletar pares de bases quando há um pareamento incorreto entre as fitas complementares nestas regiões repetitivas do DNA. A relativamente mais alta taxa de mutações que ocorrem dentro das sequências microssatélites faz com que, geralmente, estas apresentem uma gama de tamanhos variáveis em diferentes indivíduos de uma mesma espécie e população. Essas diferenças de comprimento

do microsatélite é que proporciona o alto polimorfismo e multialelismo deste marcador (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998).

Para que seja possível a utilização destes marcadores, é necessária a amplificação de seus fragmentos por meio da técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). Esta técnica envolve a síntese enzimática *in vitro* de milhões de cópias de um segmento específico de DNA através da enzima DNA-polimerase, viabilizando sua detecção e genotipagem. Durante a PCR, a fita dupla da molécula de DNA é desnaturada, formando cadeias simples. Após esse processo, fragmentos curtos de DNA conhecidos como *primers* ligam-se a regiões complementares da sequência alvo, fornecendo à enzima Taq-DNA-polimerase a extremidade 3' livre necessária para que ela inicie a síntese de uma nova fita de DNA complementar à fita molde. Este processo ocorre durante aproximadamente 30 ciclos, finalizando com a obtenção de mais de um bilhão de cópias da região alvo delimitada pelos primers (SEMAGN et al., 2006). Devido à amplificação da região microsatélite obtida nesta etapa, não é necessário que haja grandes quantidades de DNA para realização dos trabalhos.

Em estudos envolvendo microsatélites, os *primers* utilizados na PCR geralmente são loco específicos, ou seja, complementares a sequências únicas que flanqueiam o loco microsatélite de interesse. Sendo assim, para que estes *primers* possam ser confeccionados é necessário ter conhecimento prévio das sequências do genoma da espécie em estudo ou das partes que envolvem os microsatélites de interesse. A necessidade de conhecimento prévio das sequências que flanqueiam o microsatélite tornam altos os custos de desenvolvimento desses marcadores; sendo esta sua principal desvantagem. Outra grande desvantagem dos marcadores microsatélites é o baixo paralelismo, ou seja, capacidade de avaliar milhares de marcadores ao mesmo tempo, como é o caso para marcadores SNPs quando genotipados via microarranjos ou via sequenciamento de nova geração (SEMAGN et al., 2006).

Reações de PCR para microsatélites ocorrem na presença de pares de primers (*forward e reverse*) que hibridizam nas regiões alvo do DNA. Nessa reação, o fragmento de DNA contendo a região microsatélite será amplificado, podendo ser visualizado posteriormente na forma de bandas em gel de agarose ou poliacrilamida, na presença de um corante de DNA (brometo de etídio ou nitrato de prata). Outra

maneira de visualização dos fragmentos de DNA amplificados está relacionada à marcação de *primers* com fluorescência ou radioisótopos (SEMAGN et al., 2006).

A crescente utilização dos microssatélites na comunidade científica deve-se ao fato deles serem altamente informativos, pois são altamente polimórficos, bem distribuídos no genoma de eucariotos e apresentam caráter codominante, possibilitando a visualização de ambos os alelos em indivíduos heterozigotos (FARIA et al., 2011). Além disso, a genotipagem de SSRs necessita de uma pequena quantidade de DNA, é de fácil repetibilidade entre diferentes laboratórios e possui alto grau de transferabilidade de primers entre espécies relacionadas. Essas características representam vantagens dos microssatélites quando comparados a outras classes de marcadores.

Em estudos realizados com diversas espécies, os microssatélites têm sido utilizados com diferentes finalidades, que vão desde a produção de mapas genéticos (BRONDANI et al., 2006) até a avaliação do grau de polimorfismo presente no genoma destas espécies (HIRAKAWA et al., 2011), a análise de diversidade genética e obtenção de *fingerprint* molecular (FARIA et al., 2011; KIRST et al., 2005). Dentre suas utilidades, o gerenciamento da diversidade genética e identificação de sua estrutura são essenciais para racionalizar as atividades envolvidas no melhoramento genético de plantas. A identificação correta dos materiais genéticos também é importante para vários procedimentos relacionados ao melhoramento, como manejo de sementes ou programas de polinização, o que evita erros e aumenta a qualidade das atividades envolvidas no programa (GRATTAPAGLIA & KIRST, 2008).

Diversidade Genética

Uma das aplicações mais importantes dos marcadores microssatélites é a análise da diversidade genética em populações, sejam elas naturais ou de melhoramento. Diversidade genética pode ser definida como a variação de sequências genômicas nos indivíduos de uma mesma espécie. A presença de variação genética nos indivíduos fornece um conjunto de marcadores próprios para o estudo genético de organismos nos seus habitats nativos, incluindo organismos

para os quais a domesticação ou o crescimento em laboratório não podem ser realizados ou que a manipulação genética é impossível (HARTL & CLARK, 2010).

Informações sobre a diversidade genética e as relações entre indivíduos, populações, variedades ou raças são importantes, pois, através delas, é possível aperfeiçoar as atividades em programas de conservação de germoplasma ou de melhoramento genético, tanto de plantas como de animais. Além disso, essas informações contribuem também para a conservação biológica das espécies e para estudos de evolução e ecologia de populações. A associação da diversidade genética com a variabilidade fenotípica pode, ainda, identificar alelos que possam afetar a capacidade do organismo de sobreviver em seu *habitat* ou que possam permitir a ele sobreviver em ambientes mais diversificados. Este conhecimento é muito importante para a conservação de germoplasma, identificação de indivíduos, populações, variedades ou raças com características superiores (DURAN et al., 2009).

Uma das principais utilizações dos polimorfismos do DNA em estudos de genética de populações está relacionada à investigação das relações genéticas entre subpopulações de uma espécie. Estes estudos partem do princípio de que os alelos são compartilhados entre subpopulações em virtude de terem sido originadas de uma população comum e/ou da migração dos indivíduos de uma subpopulação para outra. Já nas populações humanas, os polimorfismos genéticos são úteis como marcadores genéticos, podendo estar ligados a genes deletérios que causam doenças, por exemplo. Nestes casos, esses marcadores podem ser utilizados tanto para detectar quais membros da família provavelmente carregam o gene deletério, quanto na realização de diagnósticos precoces de pessoas que provavelmente possam ser afetadas (HARTL & CLARK, 2010).

Para o gerenciamento da diversidade genética em populações de plantas é imprescindível a sua quantificação. Para tanto, a maioria dos estudos tem utilizado os seguintes parâmetros: heterozigosidade observada (H_o) e esperada (H_e) e número de alelos por loco (A_p) (PINTO, 2001). Além destes, outro parâmetro frequentemente utilizado é o coeficiente de endogamia ou índice de fixação intrapopulacional (f).

A heterozigosidade observada é uma medida da frequência de heterozigotos encontrada na amostra estudada. Este parâmetro é importante, pois demonstra a

existência de variação genética na população, uma vez que cada heterozigoto apresenta diferentes alelos para um determinado gene (WEIR, 1996). Além disso, a frequência de heterozigotos tende a ser maior com o aumento da diversidade genética. Já a heterozigosidade esperada é medida a partir das frequências alélicas encontradas na amostra, partindo do pressuposto de que a população esteja em Equilíbrio de Hardy-Weimberg. Este parâmetro pode ser estimado subtraindo-se a frequência de homozigotos esperada (p_i^2) de um (frequência total), a partir da seguinte fórmula:

$$He \equiv 1 - \sum p_i^2$$

Onde p_i é a frequência estimada do i ésimo alelo.

Outro parâmetro importante para estimar a diversidade genética de uma população é o número de alelos encontrados por loco (A_p). Esta estimativa é de fundamental importância para a escolha de populações que irão participar de programas de conservação ou melhoramento, pois quanto maior o número de alelos presentes em uma população, maior é a sua diversidade e, portanto, maior é a chance de se encontrar combinações genotípicas favoráveis do ponto de vista do melhoramento genético (PETIT et al., 1998). Entretanto, a estimativa de A_p é fortemente influenciada pela quantidade de indivíduos presentes na população, tendendo a aumentar quanto maior for o tamanho amostral. Isso ocorre porque em amostras grandes há uma maior chance de se detectar alelos raros, ou seja, alelos que são encontrados em baixa frequência na população (ZUCCHI, 2002; CABALLERO et al., 2010). A fim de corrigir este problema, vários estudos tem utilizado a riqueza alélica para comparar o número de alelos por loco encontrados entre populações que apresentam tamanho amostral diferente. Um dos métodos mais utilizados para estimar riqueza alélica é o proposto por Foulley & Ollivier (2006). Neste método um tamanho populacional fixo é estabelecido para estimativa da riqueza alélica utilizando o método de rarefação proposto por Hulbert (1971). Desse modo, os valores de riqueza alélica obtidos não são afetados pela diferença na quantidade de indivíduos existente nas populações em estudo.

A endogamia é o fenômeno que ocorre em decorrência do acasalamento entre indivíduos aparentados ou, no caso mais extremo, quando ocorre autofecundação. O coeficiente de endogamia (f) refere-se à probabilidade de que os alelos de um loco sejam idênticos por ascendência, ou seja, quando derivam ou são cópias de um alelo comum, encontrados em seus ancestrais. Este parâmetro pode ser estimado através do coeficiente de parentesco entre dois indivíduos ou através da frequência de heterozigotos presentes na amostra (CRUZ et al., 2011). Se o valor de f encontrado for baixo ou até mesmo negativo, a endogamia para aquele loco é nula na população estudada. Por outro lado, se o valor de f é elevado, a endogamia está presente, fazendo com que a frequência de homozigotos seja maior do que o esperado sob equilíbrio de Hardy-Weinberg.

A maioria dos estudos de diversidade genética baseia-se em informações de locos amostrados aleatoriamente em populações não estruturadas de maneira hierárquica. Sendo assim, diversas medidas de dissimilaridade (distância) têm sido propostas para verificar o grau de similaridade e a variação genética em amostras de populações, com estimativas em nível individual, intrapopulacional e interpopulacional (CRUZ et al., 2011).

As medidas de dissimilaridade são estatísticas multivariadas de redução de dados ou informações, sendo empregadas para se comparar pares de populações (ou indivíduos) em estudo (WEIR, 1996). As estimativas de distâncias obtidas pela análise par a par geram uma matriz capaz de proporcionar uma classificação objetiva e estável das populações estudadas (DIAS, 1998). Algumas dessas medidas utilizam dados binários, representando presença e ausência de um determinado alelo ou marca. Essas medidas têm sido mais usadas para informações provenientes de marcadores dominantes, uma vez que não é possível distinguir o genótipo homozigoto dominante do heterozigoto (ROBINSON, 1998). Já outras medidas de dissimilaridade se baseiam nas frequências alélicas ou genotípicas, cujo cálculo é realizado com base em locos individuais, sendo a distância final representada pela média das distâncias de cada loco (CRUZ et al., 2011).

Uma das distâncias genéticas mais utilizadas em estudos envolvendo marcadores codominantes, como os microssatélites, é baseada no coeficiente de Nei Li (1978). Esse coeficiente permite a comparação dos níveis de heterozigosidade entre e dentro das populações, bem como a obtenção de uma

estimativa de divergência, a partir de uma base diferente daquela que fundamenta as estimativas de FST e θ . Esta abordagem derivase da fórmula de diversidade gênica média total dada por $HT = HS + DST$, onde HS é a diversidade gênica média dentro das populações, e DST é a diversidade gênica média entre as populações, com a diferenciação genética relativa entre populações sendo obtida por $GST = DST/HT$.

A identificação de grupos mais similares através da análise visual da matriz de distâncias não é trivial, especialmente quando a matriz é muito extensa. Logo, as análises de agrupamento facilitam bastante essa identificação. A análise de agrupamento é uma técnica exploratória que visa à geração de hipóteses sobre o padrão de aglomeração estabelecido, tendo como fundamento o princípio proposto por Rannala & Mountain (1997). De acordo com esse princípio, a análise de agrupamento deve ser capaz de reunir organismos geneticamente semelhantes e identificar grupos a partir de dados genéticos de uma amostra de indivíduos, assumindo que estes são originados de populações desconhecidas.

O resultado final das análises de agrupamento geralmente é representado em um dendrograma. No entanto, os grupos identificados no dendrograma nem sempre são confiáveis, pois o resultado final pode não representar muito bem a matriz de dissimilaridade genética utilizada. Dessa forma, é importante que se realize uma avaliação da concordância existente entre a matriz de distâncias genéticas e o dendrograma obtido. Essa avaliação é realizada através do coeficiente de correlação cofenética, que indica qual é o grau de correlação entre a matriz de distâncias original e a matriz de distâncias cofenéticas, obtida a partir do dendrograma. A estimativa de correlação cofenética varia de zero (0) a um (1) e, quanto maior for o valor obtido para este coeficiente, maior a representatividade do dendrograma em relação à matriz de distâncias genéticas (CRUZ & REGAZZI, 2001; TEMPLETON, 2006; CRUZ et al., 2011).

Em estudos de diversidade genética com marcadores microssatélites envolvendo diferentes espécies, o método de agrupamento mais utilizado é o UPGMA (*unweighted pair-group method using arithmetic averages*). Trata-se de uma técnica de que utiliza as médias não ponderadas das medidas de dissimilaridade, evitando, assim, caracterizar a dissimilaridade por valores extremos (mínimo e máximo) entre os genótipos considerados (CRUZ et al., 2011). A grande utilização

do método UPGMA em trabalhos envolvendo estudos de diversidade genética deve-se ao fato de que este método maximiza o coeficiente de correlação cofenética, o que traz maior confiabilidade aos dados obtidos (SOKAL & ROLF, 1962).

Análise dialélica

Cruz et al. (2004) relatam que dentre os vários métodos de análise dialélica, as metodologias mais comumente utilizadas são a proposta por Griffing (1956), pela qual são estimados os efeitos e as somas de quadrados de efeitos da capacidade geral e específica de combinação; a metodologia proposta por Gardner e Eberhart (1966), no qual são avaliados os efeitos de variedades e heterose varietal; e a proposta por Hayman (1954), que informa sobre o mecanismo básico de herança do caráter em estudo, os valores genéticos dos genitores utilizados e o limite de seleção. Segundo Vencovsky (1970), a capacidade geral de combinação (CGC) refere-se ao comportamento médio de uma linhagem em uma série de cruzamentos, e a capacidade específica de combinação (CEC), refere-se ao comportamento particular de duas linhagens quando cruzadas entre si. Cruz et al. (2004) ressaltam que a CEC está associada aos efeitos gênicos não-aditivos, enquanto que a CGC, está associada à ação aditiva dos genes.

Griffing (1956) relacionou quatro métodos de análise: a) Método 1, em que todas as p^2 combinações são incluídas, ou seja, os genitores, os híbridos F1's e os recíprocos; b) Método 2, que envolve as $p(p+1)/2$ combinações, faltando os híbridos F1's recíprocos; c) Método 3, onde são incluídas as $p(p-1)$ combinações, faltando os genitores; e d) Método 4, que inclui as $p(p-1)/2$ combinações, ficando de fora os genitores e os híbridos F1's recíprocos. Segundo Cruz et al. (2004), cada um destes métodos pode ser analisado considerando um modelo fixo ou aleatório, dependendo da natureza da amostra dos genitores.

O uso dessas tecnologias auxilia significativamente o programa de melhoramento genético da mamoneira visando o incremento do cruzamento entre linhagens elites, uma vez que o programa encontra-se em estágio com populações avançadas e faz-se necessário a descoberta de combinações desejáveis entre essas linhagens.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, T. C.; CANÉCHIO FILHO, V. **Principais Culturas**. 2. ed. Campinas, SP: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1973, v. 2, 403 p.

AZEVEDO, D. M. P. de; BELTRÃO, N. E. de M. O agronegócio da mamona no Brasil. 2 ed. rev. amp. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, 2007. 506 p.

BAHIA, H. F.; SILVA, S. A., FERNANDEZ, L. G., L. C. A. da S.; M. R. F. C. Divergência genética entre cinco cultivares de mamoneira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.3, p.357-362, 2008.

BARROS, A. R. Estudo da mamona: relatório setorial. PERNAMBUCO. Secretaria de Planejamento. **Economia de Pernambuco: uma contribuição para o futuro**. Recife, 2005.

BELTRÃO, N. E. de M.; CARDOSO, G. D. **Informações sobre os sistemas de produção utilizados na ricinocultura na região nordeste, em especial o semi-árido e outros aspectos ligados a sua cadeia**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2004. 5 p. (Embrapa Algodão. Comunicado Técnico, 213).

BELTRÃO, N. E. M. de; SILVA, L. C.; VASCONCELOS, O. L.; AZEVEDO, D. M. P.; VIEIRA, D. J. Fitologia. In: AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, E. F. (Eds.). O agronegócio da mamona no Brasil. Brasília: **Embrapa informação tecnológica**, 2001. cap. 2, p. 37-62.

BRASILEIRO, H. S. **Seleção de linhagens elites de mamoneira por meio de marcadores microssatélites e caracteres teor de óleo e peso de sementes por planta**. 2014. 63 f. Dissertação (Mestrado em Recursos genéticos vegetais), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia Cruz das Almas, 2014.

BRONDANI, R. P. V.; WILLIAMS, E. R.; BRONDANI, C.; GRATTAPAGLIA, D. A microsatellite-based consensus linkage map for species of *Eucalyptus* and a novel set of 230 microsatellite markers for the genus. **BMC Plant Biology**. London, v. 6, n. 20, p. 1-16, set. 2006.

CABALLERO, A.; RODRÍGUEZ-RAMILO, S. T.; ÁVILA, V.; FERNÁNDEZ, J. Management of genetic diversity on subdivided populations in conservation programmes. **Conservation Genetics**. Dordrecht, v. 11, n. 1, p. 409-419, 2010.

CERQUEIRA, L. S.; SILVA, S. A.; VILARINHOS, A. D.; AMORIM, E.; PALMEIRI, D. A.; MOREIRA, R. F. C.; PESTANA, K. N.; SILVA, A. N.; JÚNIOR, J. F. P. **Seleção de primers RAPD capaz de detectar polimorfismo em mamoneira**, III Congresso Brasileiro de Mamona Energia e Ricinoquímica, 2008.

COSTA, M. N. **Análise dialéctica das capacidades geral e específica de combinação utilizando técnicas uni e multivariadas de divergência genética em mamoneira (*Ricinus communis* L.)**. Areia: UFPB, 2006. 155 p.

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

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. (2004) **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, v.1, 480 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2 ed. Viçosa: UFV, 2001. 390 p.

DIAMANTINO, M. S. A. S. **Variabilidade genética, viabilidade de pólen e estresse salino em genótipos de mamoneira** / Maria Selma Alves Silva Diamantino. Cruz das Almas, BA, 2013.

DIAS, L. A. S. Análises Multidimensionais. In: ALFENAS, A. C. (Ed.) **Eletoforese de isoenzimas e proteínas afns**. Viçosa: UFV, 1998. P. 405-475.

DURAN, C.; APPLEBY, N.; EDWARDS, D., BATHEY, J. Molecular Genetic Markers: Discovery, Applications, Data Storage and Visualisation. **Current Bioinformatics**. Roma, v. 4, n. 1, p. 16-27, 2009.

FARIA, D. A.; MAMANI, E. M. C.; PAPPAS JR, M. R.; GRATTAPAGLIA, D. Genotyping systems for Eucalyptus based on tetra-, penta- and hexanucleotide repeat EST microsatellites and their use for individual fingerprinting and assignment tests. **Tree Genetics & Genomics**. Heidelberg, v. 7, p. 63-77, jun. 2011.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3.ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220 p.

FOULLEY, J. L.; OLLIVIER, L. Estimating allelic richness and its diversity. **Livestock Science**. Tjele, v. 101, n. 1, p. 150-158, 2006.

FREIRE, E. C.; LIMA, E. F.; ANDRADE, F. P. de. Melhoramento genético. In: AZEVÊDO, D. M. P. de.; LIMA, E. F. (Ed.). O agronegócio da mamona no Brasil. Brasília: Embrapa-Algodão, p. 230-256. 2001.

GARDNER, C. O.; EBERHART, S. A. Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. **Biometrics**, Tucson, v. 22, n. 3, p. 439-452, Sept. 1966.

GRATTAPAGLIA, D.; KIRST, M. Eucalyptus applied genomics: from gene sequences to breeding tools. **New Phytologist**. Lancaster, v. 179, n. 4, p. 911-929, 2008.

GRIFFING, B. (1956) Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing system. **Australian Journal of Biological Science**, 9:462-93.

GURGEL, J. T. do A. **Estudos sobre a mamoneira (*Ricinus communis* L.)**. 1945. 69 f. Tese (doutorado em citologia e genética geral), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1945.

Hayman, B.I. (1954) The theory and analysis of diallel crosses. **Genetics**, 39:789-809.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Princípios de Genética de Populações**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 660 p.

HEMERLY, F. X. Mamona: **Comportamento e tendências no Brasil**. Brasília: Embrapa - Departamento de Informação e Documentação. 1981. 63p.

HIRAKAWA, H.; NAKAMURA, Y.; KANEKO, T.; ISOBE, S.; SAKAI, H.; KATO, T.; HIBINO, T.; SASAMOTO, S.; WATANABE, A.; YAMADA, M.; NAKAYAMA, S.; FUJISHIRO, T.; KISHIDA, Y.; KOHARA, M.; TABATA, S.; SATO, S. Survey of genetic information carried in the genome of *Eucalyptus camaldulensis*. **Plant Biotechnology**. Malden, v. 28, n. 1, p. 471-480, 2011.

HULBERT, S. H. The Nonconcept of Species Diversity: A Critique and Alternative Parameters. **Molecular Ecology**. Oxford, v. 52, n. 4, p. 577-586, 1971.

KIRST, M.; CORDEIRO, C. M.; REZENDE, G. D. S. P.; GRATTAPAGLIA, D. Power of microsatellite markers for fingerprinting and parentage analysis in *Eucalyptus grandis* breeding populations. **Journal of Heredity**. Oxford, v. 96, n. 2, p. 161-166, dec. 2005.

KRIEGER, M.; ZANOTTO, M.D.; MYCZKOWSKI, M.L.; VENCOVSKY, R. **Efeito da endogamia em progênies de mamona (*Ricinus communis* L.)**. Congresso Brasileiro de Mamona, II, Aracaju, CD-Rom, 2006.

MACHADO, E.L. ; SILVA, S. A. Desenho e validação de iniciadores microssatélites SSR para mamoneira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 1457-1463, 2013.

MACHADO, E. L. **Genotipagem, teor de óleo, otimização do método gravimétrico e desenvolvimento de marcadores microssatélite em *Ricinus***

communis L. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA. 2011, 118p.

MAIA, M. C.; ASSIS, G. M. L. de; ROCHA, M. de M. O fenômeno da endogamia em plantas. **Agrosoft Brasil**, 2008.

MIRANDA, J.B.F. Endogamia e consangüinidade. **In:** NASS, L.L. Recursos genéticos e melhoramento: plantas. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p.629-647.

MOREIRA, J. A. N.; LIMA, E. F.; FARIAS, F. J. C.; AZEVÊDO, D. M. P. **Melhoramento da mamoneira (*Ricinus communis L.*)**. Campina Grande: Embrapa-Algodão, 1996. 29p. (Documentos, 44).

MOSHKIN, V. A. Ecology. **In:** MOSHKIN, V. A. (Ed.). **Castor**. New Delhi: Amerind, 1986. p. 54-64.

MYCZKOWSKI, M. L. **Variabilidade genética para o teor de óleo entre progênes autofecundadas de mamona (*Ricinus communis L.*) da cultivar Guarani**. Botucatu: UNESP, 38 p., 2003 (Dissertação de mestrado).

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**. Bethesda, v. 89, p. 583-590, jul. 1978.

OLIVEIRA, R. S. de. **Avaliação de população segregante (F3) de mamoneira em condições do recôncavo baiano**. 2011. 39 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia Cruz das Almas, 2011.

OLSNES, S. **The history of ricin, abrin and related toxins**. *Toxicon*, v. 44, p. 361-370, 2004.

PASSOS, A.R.; SILVA, S.A.; SOUZA, C. S.; SOUZA, C.M.M. ; FERNANDES, L.S. Parâmetros genéticos de caracteres agronômicos em genótipos de mamoneira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, n.7, p.709-714, 2010.

PASSOS, A. R. **Estudo genético e agrônômico da mamoneira em baixas altitudes do Recôncavo Baiano**. 2009. 109f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, UFRB, Cruz das Almas, 2009.

PETIT, R. J.; MOUSADIK, A.; PONS, A. O. Identifying Populations for Conservation on the basis of genetic markers. **Conservation Biology**. Gainesville, v. 12, n. 4, p. 844-855, 1998.

PINTO, L. R. Analysis of the genetic stability of *Eucalyptus globulus* Labill. somatic embryos by flow cytometry. **Theoretical and Applied Genetics**. Stuttgart, v. 109, n. 3, p. 580-587, 2001.

RANNALA, B.; MOUNTAIN, J. L. Detecting immigration by using multilocus genotypes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. La Jolla, v. 94, n. 1, p. 9197-9201, 1997.

ROBINSON, I. P. Aloenzimas na genética de populações de plantas. In: ALFENAS, A. C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: Fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos**. Viçosa: Ed. UFV, Universidade Federal de Viçosa, 1998. P. 329-380.

SAMPAIO FILHO, O. M. **Análise descritiva, agrupamento e análise de trilha de cultivares de mamoneira em dois anos de cultivo em Cruz das Almas – BA**. Cruz das Almas, 2009. 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas.

SANTOS, L. A. dos. **Caracterização e seleção de linhagens elites de mamoneira (*Ricinus communis* L.) por meio do desempenho morfoagronômico e molecular no Estado da Bahia**. 2013. 85f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, UFRB, Cruz das Almas, Ba.

SAVI FILHO, A. et al. IAC-2028: nova cultivar de mamona. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 3, p. 449-452, 2007.

SAVY FILHO, A. **Mamona Tecnologia Agrícola**. Campinas: EMOPI, 2005. 105 p.

SAVY FILHO, A. Melhoramento da Mamona. **In:** Borém, Aluizio. (Org.). Melhoramento de espécies cultivadas. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, p. 385-407, 1999.

SEMAGN, K.; BJORNSTAD, A.; NDJIONDJOP, M. N. An overview or molecular marker methods for plants. **African Journal of Biotechnology**. Rondebosch, v. 5, n. 25, p. 2540-2568, dec. 2006.

SILVA, V. **Características fisiológicas de cultivares de mamoneira (*Ricinus communis* L.) no Recôncavo Baiano**. Cruz das Almas, 2008. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. The comparison of dendograms by objective methods. **Taxon**. Mainz, v. 11, n. 1, p. 30-40, 1962.

SORATTO, R. P. et al. Espaçamento e população de plantas de mamoneira de porte baixo para colheita mecanizada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 245-253, 2011.

SOUZA-SCHLICK, G. D. et al. Desempenho da mamoneira IAC 2028 em função do espaçamento entre fileiras e população de plantas na safrinha. **Bragantia**, v. 70, n. 3, p. 452-456, 2011.

TEMPLETON, A. R. **Population Genetics and Microevolutionary Theory**. A John Wiley & Sons., Inc., Publication: USA, 2006. 716 p.

VENCOVSKY, R. (1970) **Alguns aspectos teóricos e aplicados relativos a cruzamentos dialélicos de variedades**. Tese (Livre Docência) - Piracicaba - SP, ESALQ, 59p.

VEIGA, R. F. A.; SAVY FILHO, A.; BANZATTO, N. V. **Descritores mínimos para caracterização e avaliação de mamoneira (*Ricinus communis* L.) aplicados no Instituto Agrônomo**. Campinas: Instituto Agrônomo, IAC, 1989, 16p. (Boletim técnico, 125).

WEIR, B. S. **Genetics data analysis II: methods for discrete population genetic data**. Sunderland: Sinauer Associates, 1996. 455 p.

ZUCCHI, M. I. **Análise da estrutura genética de *Eugenia dysenterica* DC utilizando marcadores RAPD e SSR**. 2002. 148 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Genética e Melhoramento de Plantas)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

ARTIGO I

LINHAGENS POLIMÓRFICAS DE *RICINUS COMMUNIS* L. IDENTIFICADAS POR MARCADORES MOLECULARES SSR¹

LINHAGENS POLIMÓRFICAS DE *RICINUS COMMUNIS* L. IDENTIFICADAS POR MARCADORES MOLECULARES SSR

Autor: Helison Santos Brasileiro

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Simone Alves Silva

Co-orientadora: Dr^a. Edna Lôbo Machado

RESUMO: Os marcadores moleculares SSR por serem altamente polimórficos são importantíssimos para a detecção de polimorfismo em uma população de linhagens com alto grau de homozigose, ou seja, sem que ocorra segregação dos seus alelos e, portanto, mais fácil para prever o comportamento das progênes. Assim, o objetivo do trabalho foi identificar linhagens polimórficas por marcadores moleculares SSR. Cada indivíduo foi avaliado por meio de 36 pares de primers SSR, destes 35 foram polimórficos. O conteúdo de informação polimórfica variou de 0,71 a 0,99 com média de 0,94, sendo considerados loci altamente informativos valores de PIC superiores a 0,5. A partir da análise multivariada desses loci polimórficos, foi possível o agrupamento das linhagens em sete grupos distintos. As linhagens mais divergentes identificadas, servirão para posterior avaliação de desempenho em ensaios sob diferentes ambientes e para seleção das divergentes para novas combinações híbridas. Esses dados também serviram de base para a obtenção de híbridos por meio de um cruzamento dialélico, para avaliação futura das características dos mesmos, uma vez que tais linhagens já possuem caracteres morfo-agronômicos superiores.

Palavras chave: polimorfismo, base genética, mamoneira.

**GENETIC DIVERGENCE IN THE F6 CASTOR POPULATION IN A HIGH DEGREE
OF HOMOZYGOSIS BY MEANS OF MOLECULAR MARKERS OF THE SSR
TYPE.**

Author: Helison Santos Brasileiro

Advisor: Profa. Dr. Simone Alves Silva

Co-Advisor: Dr. Edna Lôbo Machado

ABSTRACT: SSR molecular markers because they are highly polymorphic are extremely important for the detection of polymorphism in a population of lineages with a high degree of homozygosity, that is, without segregation of their alleles and therefore easier to predict progeny behavior. Thus, the objective of the work was to identify polymorphic lineages by molecular markers SSR. Each individual was evaluated by means of 36 pairs of SSR primers, of which 35 were polymorphic. The content of polymorphic information varied from 0.71 to 0.99 with a mean of 0.94, with highly informative loci being ICP values above 0.5. From the multivariate analysis of these polymorphic loci, it was possible to group the lines into seven distinct groups. The most divergent strains identified, will serve for further evaluation of performance in trials under different environments and for selection of divergent for new hybrid combinations. These data also served as a basis for obtaining hybrids by means of a diallel cross, for future evaluation of the characteristics of the same ones, since these lineages already have superior morpho-agronomic characters.

Key words: polymorphism, genetic base, castor bean.

INTRODUÇÃO

Ricinus communis L, conhecida como mamona, é uma planta da família Euphorbiaceae. Se destaca, por ser uma cultura com vasta aplicação industrial e apresentar mais de 85% de ácido ricinoleico no óleo de suas sementes, o que lhe confere um alto índice de viscosidade e maior estabilidade entre todos os óleos vegetais, proporcionando assim um alto poder de lubrificação, especialmente sob condições de baixa temperatura, notadamente para fabricação de combustível para aviação, lubrificantes, nylon, corantes, tintas, sabões, fluidos hidráulicos, graxas especiais, cosméticos, próteses, farmacêuticos, adesivos e biodiesel (OGUNNIYI, 2006; BAJAY et al., 2009; FALASCA et al., 2012; RUKHSAR et al., 2018).

A mamoneira é uma planta de clima tropical, preferindo locais de temperatura do ar variando entre 20 e 30°C, precipitações pluviárias mínimas de 500mm, elevada insolação, e baixa umidade relativa do ar, durante a maior parte do seu ciclo (BELTRÃO; SOUZA, 2003). De acordo com EMBRAPA (2012), a mamona é considerada uma espécie de dias longos e o seu desenvolvimento é beneficiado em fotoperíodos maiores que 12 horas. O ótimo ecológico da cultura da mamona apresenta temperatura de 23°C, precipitações em torno de 1000 mm.ano⁻¹, mas pode variar entre 500 a 1600 mm.ano⁻¹, bem distribuídos com rendimentos em torno de 1500 kg.ha⁻¹ (BELTRÃO; SILVA, 1999).

De acordo com Amorim Neto *et al.* (2001), a mamoneira, embora seja uma planta rústica, que se adapta com facilidade às diversas condições de ambiente, e que pode ser encontrada em todas as regiões brasileiras, só alcança produtividade e qualidade satisfatórias de seu produto comercial, quando cultivada em determinadas condições edafoclimáticas.

Dessa forma, a mamona se apresenta como uma alternativa de grande importância sócio-econômica principalmente para a região nordeste do país, proporcionando a diversos agricultores uma fonte a mais para sua subsistência. No entanto, apesar de tolerante a seca, os agricultores, em grande maioria da agricultura familiar, enfrentam problemas com a produtividade da mamoneira, por possuírem possivelmente materiais de baixa qualidade genética, o que acaba se tornando um entrave ao cultivo dessa cultura. No caso específico da mamona, a

baixa qualidade das sementes implica na baixa produtividade, caindo de 1.200kg/ha para valores abaixo de 700kg/ha, e o que é mais importante, na redução do rendimento agroindustrial em óleo, saindo de 45% para valores abaixo de 30% (NETO, SANTOS e CARVALHO, 2006).

Os marcadores microssatélites são uma ferramenta adequada e importante em genética vegetal, por serem abundantes e uniformemente distribuídos por todo genoma, gerarem alto polimorfismo, serem reprodutíveis, requererem pequena quantidade de DNA e possuírem herança codominante e natureza multialélica (OLIVEIRA et al., 2006; OLIVEIRA & SILVA, 2008).

O NBIO (Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia) da UFRB (Universidade Federal do Recôncavo da Bahia) vem trabalhando desde 2005 para obtenção de linhagens melhoradas, que tenham alto teor de óleo, porte baixo e tolerância ao mofo cinzento (*Amphobotrys ricini*), viabilizando assim o plantio dessa espécie em grande escala.

Com base nessas características e almejando selecionar as linhagens mais promissoras, o programa de melhoramento genético da mamoneira da UFRB/NBIO encontra-se num estágio bem avançado, sendo conduzida uma população F6 em alto grau de homozigose. Por conseguinte, o objetivo desse trabalho foi analisar a divergência genética de 202 linhagens de uma população F6 de mamoneira em alto grau de homozigose por meio de marcadores genéticos moleculares do tipo SSR (*Simple Sequence Repeat*).

MATERIAL E MÉTODOS

As linhagens elites foram obtidas a partir de cruzamentos entre os parentais: BRS Nordestina, Sipeal, EBDA MPA-17, Mirante e Paraguaçu e desenvolvidas pelo programa de melhoramento genético do Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - NBIO/UFRB, na cidade de Cruz das Almas, Bahia, Brasil. O método de melhoramento utilizado para condução das populações foi o SSD (*Single Seed Descent*) até a geração avançada F6, constituindo nessa geração alto grau de homozigose.

Extração do DNA genômico

O DNA genômico foi extraído segundo protocolo descrito por Murray & Thompson (1980) modificado. Para tanto, identificou-se previamente as plantas que seriam feitas coletas no campo experimental do NBIO com ajuda do croqui da área, elaborou-se etiquetas de identificação dessas plantas, sendo que para a coleta, foram escolhidas folhas jovens e saudáveis procedendo-se da seguinte maneira: com luvas de procedimento descartáveis e utilizando tesoura esterilizada foram cortadas cerca de 300mg da área foliar e acondicionadas em papel alumínio, etiquetado, dentro de isopor com gelo, sendo logo após, encaminhadas ao Laboratório de Biologia Molecular do Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO) da UFRB.

As folhas foram desinfestadas com hipoclorito de sódio a 1% e enxaguadas com água destilada por três vezes. Posteriormente, as amostras foram acondicionadas em freezer há temperatura de -30°C até o momento da extração. Procedendo-se a extração, as amostras foliares foram maceradas em nitrogênio líquido com o auxílio de almofariz, sendo transferidas para microtubos seguida da adição de tampão de extração (CTAB 2%; NaCl 1,4M; Tris-HCl 100mM (pH 8,0); EDTA 20mM pH 8,0; polivinilpirrolidona 2% MW10000; β -mercaptoethanol 2% e água ultra-pura q.s.p.). Após, as amostras foram homogeneizadas e incubadas em banho-maria durante 60 minutos a 65°C , sendo homogeneizadas a cada 15 minutos. Um total de 700 μl da mistura clorofórmio: álcool isoamílico (24:1) foi adicionado às amostras. Então, as amostras foram homogeneizadas por 5 minutos e centrifugadas durante 10 minutos a 10000 rpm em centrífuga refrigerada e o sobrenadante foi recuperado e transferido para novos tubos pré identificados.

Foram adicionados 600 μl de álcool isopropílico (gelado), ficando à proporção de 1:1 do volume coletado, para precipitação do DNA. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 10000rpm, e o isopropanol descartado com recuperação do DNA precipitado. Logo após, o precipitado foi solubilizado em 100 μl de tampão TE contendo dois microlitros de RNase ($10\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$), sendo as amostras incubadas em banho maria à 37°C por 30 minutos, em seguida foi adicionado 20 μl

de acetato de sódio 3M + 200 µl de etanol absoluto, ambos gelados, sendo incubado a -20°C/20 min.

Por fim, as amostras foram centrifugadas a 10000 rpm e em seguida lavadas com um mL de etanol 70%, centrifugando por três minutos à 6000 rpm, repetindo-se esse mesmo processo mais uma vez. O sobrenadante foi descartado e os microtubos contendo o precipitado, permaneceram por duas horas a temperatura ambiente, para secagem.

A leitura do gel foi feita mediante a identificação dos loci polimórficos e estimativa do tamanho dos fragmentos por pares de bases (pb) para cada linhagem. O tamanho dos fragmentos foi determinado com base no ladder de 100 pb.

Para os dados moleculares as estimativas das frequências alélicas, número de alelos por loco, heterozigosidade esperada (H_e), heterozigosidade observada (H_o), conteúdo de informação polimórfica (PIC - *Polymorphic information content*), coeficiente médio de endogamia (F) e equilíbrio de Hardy-weimberger foram obtidos com auxílio do programa PowerMarker versão 3.25 (LIU; MUSE, 2005), bem como, a matriz de dissimilaridade genética usando o índice de Nei e Li (1973). Já o dendrograma de dissimilaridade foi obtido por meio do método de agrupamento UPGMA com o auxílio dos recursos computacionais do programa mega5, e o ponto de corte obtido por meio do programa R versão 3.2.1, pelo método average e índice do pseudo t^2 . Por sua vez o coeficiente de correlação cofenético foi calculado utilizando o programa Genes (CRUZ, 2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para compor um sistema de genotipagem molecular robusto e informativo, foram selecionados aqueles marcadores que apresentaram padrões consistentes de amplificação, interpretação e que evidenciaram polimorfismos alélicos bem definidos entre as linhagens. Assim, 36 microssatélites foram selecionados para o grupo de linhagens analisados por apresentarem polimorfismo de acordo o trabalho de Brasileiro (2014) também com (*R. communis*, L). Os 36 marcadores foram utilizados dentre os 53 pares de primers SSR desenhados por Bajay (2009) e Machado e Silva

(2013). No presente trabalho, foram testados os 36 primers (Tabela 1) utilizados por Brasileiro (2014) sendo que 25 desses primers obtiveram resultados satisfatórios, apresentando polimorfismo (Figura 1), alcançando um PIC (Conteúdo de Informação Polimórfica) médio, altamente informativo. De acordo com a classificação de Botstein et al. (1980) os valores de PIC são agrupados em três níveis: altamente informativo ($PIC > 0,5$); moderadamente informativo ($0,25 < PIC < 0,5$) e pouco informativo ($PIC < 0,25$). Além disso, o PIC fornece uma estimativa do poder discriminatório do loco, e além de levar em conta o número de alelos que são expressos, leva-se em conta também as suas frequências relativas.

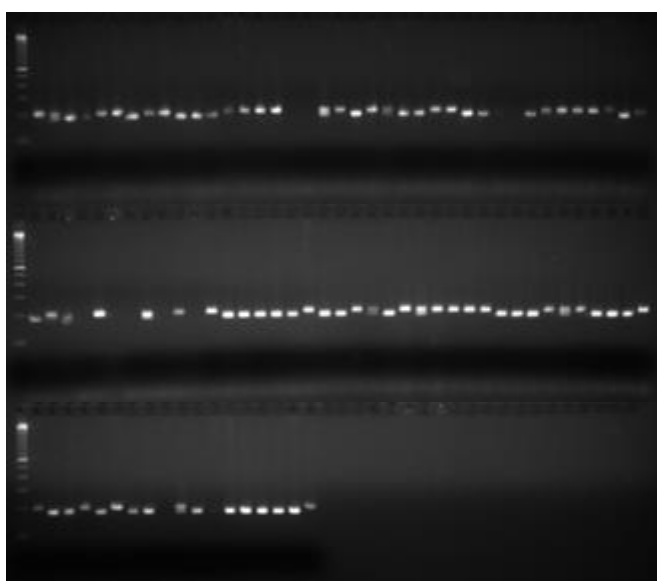


Figura 1. Marcador SSR RCOM02 aplicado na população F6 de mamoneira em alto grau de homozigose, visualizado em gel de agarose a 4% corado com brometo de etídeo. O peso molecular de todas as amostras foi obtido por comparação entre a amostra e o Ladder de 100 pb (Primeira amostra da esquerda para direita de cada fileira).

Tais características reveladas pelo PIC o tornam uma ferramenta importante em trabalhos com marcadores moleculares, pois confere maior respaldo as informações geradas por cada primer avaliado, podendo indicá-los de forma mais confiável e precisa em trabalhos futuros. Vieira et al. (2009) avaliou 283 marcadores microssatélites em cultivares de soja que foram visualizados em gel de agarose e dos 283 marcadores, 111 foram polimórficos, apresentando uma variação no conteúdo de informação polimórfica de 0,02 à 0,73 com média de 0,40. Malone et al. (2007) trabalhando com acessos de arroz vermelho, obteve resultados para o PIC que variaram de 0 (zero) até 0,97 gerando uma média de 0,53. Machado et al.

(2016) trabalhando com 32 genótipos de mamoneira e 53 marcadores microssatélites variou o PIC de 0,32 a 0,37, já Bajay et al. (2009) encontraram valor de PIC para marcadores SSR em mamoneira variando entre 0,1703 e 0,6597 trabalhando com 38 acessos de mamoneira, obtendo uma variação no PIC maior que no trabalho de Machado et al. (2016), que é explicado por uma quantidade maior de genótipos trabalhados.

Já no presente trabalho, foram avaliados 36 marcadores SSR sendo 25 polimórficos, com média de 0,9237 para o PIC, tendo uma variação de 0,7097 a 0,9780 (Tabela 1). Esse resultado denota um PIC altamente informativo. A variação de 0,7097 a 0,9780 pode ser explicada pelo fato de todos os primers microssatélites testados serem comprovadamente polimórficos em trabalhos anteriores com a própria cultura da mamona, e ter-se trabalhado com um número muito maior de linhagens, comparado a esses trabalhos, que foi de 203, além disso, as próprias características do marcador SSR favorecem o alto grau de polimorfismo encontrado, mesmo sendo em uma população avançada.

A diversidade genética de um determinado loco marcador corresponde à probabilidade de ocorrência de polimorfismo entre indivíduos tomados ao acaso (RAFALSKY et al., 1996) e é caracterizada por diversos índices como: heterozigosidade esperada, heterozigosidade observada e diversidade alélica. O parâmetro H_e corresponde a probabilidade de dois gametas, tomados ao acaso de uma população, terem alelos diferentes em um determinado loco, sendo definida como a diversidade genética de Nei (1973) esperada segundo o princípio do Equilíbrio de Hardy-Weinberg. O parâmetro H_o representa a taxa real de indivíduos heterozigotos na população estudada (BAJAY, 2009). Assim tem-se que:

$$H_e = 1 - \sum(p_i^2)$$

$$H_o = 1 - \sum p_{ii}$$

Em que p_i corresponde a frequência alélica estimada do i -ésimo alelo; p_{ii} é a frequência estimada de homozigotos ii . A estimativa média desses valores é calculada pela média aritmética entre todos os locos analisados.

Estas estimativas foram calculadas utilizando-se o programa PowerMarker versão 3.25 (LIU; MUSE, 2005).

A relação entre essas estatísticas define o Índice de Fixação de Wright (F), que é o desvio da proporção dos indivíduos heterozigotos observados do esperado segundo o equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Os valores da heterozigosidade observada (H_o), 0,04, heterozigosidade esperada (H_e), 0,94 e o coeficiente de endogamia (F), 0,57, condizem com uma população avançada em alto grau de homozigose. Quando a heterozigosidade observada (H_o) for menor que a heterozigosidade esperada (H_e) sugere uma base genética mais estreita na população, assim como um valor do coeficiente de endogamia (F) positivo e significativamente diferente de zero sugere endogamia (MOURA, et al 2009), que significa o número reduzido de heterozigotos na população.

Já o teste de Hardy-Weinberg detectou que ocorreram, em média, desvios na proporção do equilíbrio de Hardy-Weinberg em todos os loci. Esse resultado era esperado uma vez que o Equilíbrio de Hardy-Weinberg só é atingido em populações panmíticas (BAJAY, 2009), ou seja, populações em que os cruzamentos entre os indivíduos de diferentes genótipos devem ocorrer ao acaso, sem qualquer preferência, o que não ocorreu na população em estudo visto que esta foi conduzida por autofecundação.

Os dados oriundos da genotipagem foram utilizados para a obtenção da matriz e dendrograma de dissimilaridade por meio de programas estatísticos. A matriz de dissimilaridade foi obtida por meio do coeficiente de Nei e Li (1973), ideal para marcadores codominantes. Os agrupamentos hierárquicos a partir da matriz de distância foram obtidos pelo método UPGMA – *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (Average)* (SNEATH; SOKAL, 1973). A validação dos agrupamentos foi determinada por meio do coeficiente de correlação cofenético (SOKAL; ROHLF, 1962) que mede quanto à matriz de distância explica a matriz de agrupamento, sendo que a correlação entre a matriz de distância e a matriz de agrupamento no presente trabalho foi de 87,65%, considerada alta e adequada. Para Vaz Patto (2004), $r > 0,56$ é considerada ideal, refletindo uma boa concordância entre a matriz de dissimilaridade e a de agrupamento.

Quando realizada a análise multivariada, o método de agrupamento hierárquico UPGMA (Figura 2) revelou ser mais adequado e representativo do que os métodos Ward e Vizinho Mais Próximo (VMP), uma vez que comparando os

valores de correlação cofenética entre os diferentes métodos, o UPGMA teve valor de 87,65%, enquanto Ward e VMP tiveram valores de 78,06% e 58,13% respectivamente. Segundo Sokal & Rohlf (1962), valores acima de 0,8 ou 80% indicam um bom ajuste entre a matriz de similaridade ou dissimilaridade com o dendrograma. Essa maior correlação do UPGMA em detrimento ao método Ward e VMP, também foi encontrado por Gonçalves et al., (2008) e Rocha et al., (2009), e pode ser explicado pelo fato de que este método é baseado em médias aritméticas, enquanto o VMP considera o menor valor entre dois genótipos e o Ward considera a menor soma de quadrados em cada etapa do processo de formação dos grupos como afirma Aramendiz-Tatis et al. (2011).

Por meio do índice do pseudo-t₂ pode-se observar que o ponto de máximo foi atingido com a formação de sete grupos, indicando que este ponto está relacionado com a menor probabilidade de significância do teste, e por sua vez o fim do processo de agrupamento. Sendo assim, sete grupos foram determinados como ideais para análise do agrupamento UPGMA (Figura 2).

A variabilidade genética mede a tendência dos diferentes alelos de um mesmo gene que variaram entre si em uma dada população e não deve ser confundida com diversidade genética, a qual é a quantidade total de variações genéticas observada tanto entre as populações de uma espécie como entre os indivíduos de uma população, portanto, os resultados obtidos mostram a eficácia dos métodos utilizados, uma vez que uma população avançada possui porcentagem de heterozigotos mais baixa em sua constituição.

Todos os dados obtidos principalmente a distância genética mostraram que embora tenha se trabalhado com uma população avançada F6 em alto grau de homozigose, a base genética não é estreita, pois os marcadores SSR mostraram que houve dissimilaridade genética entre os genótipos. Todos os resultados obtidos serão utilizados em projetos futuros, pois é de grande importância termos linhagens melhoradas e geneticamente distantes, pois a capacidade de uma população para se adaptar a um ambiente em mudança depende da variabilidade genética. Indivíduos com determinados alelos ou combinações de alelos podem ter precisamente as características necessárias para sobreviverem e se reproduzirem sob novas condições.

CONCLUSÃO

A população possui alto índice de indivíduos homozigotos, corroborando o fato de ser uma população avançada F6, possível de seleção, pois possui linhagens com alto nível de polimorfismos.

Marcadores moleculares do tipo SSR são eficazes na determinação de divergência genética nas linhagens, com possível seleção destas para posterior avaliação de desempenho em ensaios para desenvolvimento de cultivares distintas e para novas combinações híbridas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM NETO, M. da S.; ARAÚJO, A. E. de; BELTRÃO, N. E. de M. Zoneamento agroecológico e época de semeadura para a mamoneira na Região Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v.9, n.3, p.551-556, 2001.

ARAMENDIZ-TATIS H; SUDRÉ CP; GONÇALVES LSA; RODRIGUES R. 2011. Potencial agrônomo e divergência genética entre genótipos de berinjela nas condições do Caribe Colombiano. **Horticultura Brasileira** 29: 174-180.

BAJAY, M. M. **Desenvolvimento de marcadores microssatélite e caracterização do banco de germoplasma de mamona (*Ricinus communis* L.)**. ESALQ-USP. 96 p, São Paulo, 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências. Área de Concentração Genética e Melhoramento de Plantas).

BAJAY, M.M., PINHEIRO, J.B., BATISTA, C.E.A. et al. Development and characterization of microsatellite markers for castor (*Ricinus communis* L.), an important oleaginous species for biodiesel production. **Conservation Genet Resour**1: 237, 2009.

BELTRÃO, N. E. M.; SILVA, L. C. Os múltiplos usos do óleo da mamona (*Ricinus communis* L.) e a sua importância do seu cultivo no Brasil. **Fibras e Óleos**, v.31, 1999.

BELTRÃO, N. E. M.; SOUZA J. G. Estresse hídrico (deficiência e excesso) e seus efeitos no crescimento inicial da mamoneira, cultivar BRS 188 Paraguaçu. **Revista de Oleaginosas e Fibrosas**, v.7, p.735-741, 2003.

BRASILEIRO, H. S. **Seleção de linhagens elites de mamoneira por meio de marcadores microssatélites e caracteres teor de óleo e peso de sementes por planta**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da

Bahia. Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. Cruz das Almas – BA, 2014, 76f.

CRUZ, C.D. Programa Genes: Biometria. Editora UFV. Viçosa (MG). 382p. 2006. GONÇALVES LSA; RODRIGUES R; AMARALJÚNIOR AT; KARASAWA M; SUDRÉ CP. 2008 Comparison of multivariate statistical algorithms to cluster tomato heirloom accessions. **Genetics and Molecular Research** 7: 1289-1297.

EMBRAPA. CNPA. Cultivo da Mamona – **Sistemas de Produção. Embrapa Algodão.** 2008. Disponível em: <http://www.cnpa.embrapa.br/produtos/mamona/>. Acesso em: 19/06/2012.

FALASCA, S. L.; ULBERICH, A. C.; ULBERICH, E. Developing an agro-climatic zoning model to determine potential production areas for castor bean (*Ricinus communis* L.). **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 40, n. 1, p. 185–191, 2012.

GONÇALVES, J. L. M. et al. Assessing the effects of early silvicultural management on long-term site productivity of fast-growing eucalypt plantations: the Brazilian experience. **Southern Forests**, v.70. p105-118, 2008.

K. LIU AND S. V. MUSE. Power Marker: Integrated analysis environment for genetic marker data. **Bioinformatics** 21(9): 2128-2129 (2005).

MACHADO, E. L., SILVA, S. A., FERNANDES, L. DOS S., BRASILEIRO, H. S. Genetic variability and homozygosity in a F4 castor bean population by microsatellite markers. **Bragantia**, Campinas, v. 75, n. 3, p.307-313, 2016

MACHADO, E. L.; SILVA, S. A. Desenho e validação de iniciadores microssatélites SSR para mamoneira. Pesquisa **Agropecuária Brasileira, Brasília**, v.48, n.11, p.1457-1463, nov. 2013.

MALONE, GASPAR, et al. "Caracterização bioquímica e molecular de acessos de arroz vermelho coletados no estado do Rio Grande do Sul." **Pesquisa Agropecuária Tropical** 37.2 (2007): 77-85.

MOURA, T. M. de; et al. Diversidade e estrutura genética espacial em populações fragmentadas de *Solanum* spp. do Cerrado, estimadas por meio de locos microssatélites. **Scientia Forestalis, Piracicaba**, v. 37, n. 82, p. 143-150, jun. 2009.

MURRAY, H.G. AND THOMPSON, W.F. (1980) Rapid Isolation of High Molecular Weight DNA. **Nucleic Acids Research**, 8, 4321-4325.

NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 70, p.3321-3323, 1973.

NEI, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proc. Nat. Acad. Sc.** USA 70:3321-3323.

NETO, F. L. P.; NEIVA, R. M.; SANTOS; CARVALHO, J. M. M. **Perspectivas para a Cultura da Mamona no Nordeste em 2006**. XLIV Congresso da Sober. Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural. Fortaleza – CE, 2006.

OGUNNIYI, D. S. (2006). Castor oil: a vital industrial raw material. **Bioresource Technology**, 97, 1086-1091. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2005.03.028>. PMID:15919203.

OLIVEIRA, E.J. et al. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, v.29, n.2, p.294-307, 2006.

OLIVEIRA, M.S.P.; SILVA, K.J.D. Diferenciação genética entre procedências de açaizeiro por marcadores moleculares RAPD e SSR. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.2, p.438-3, 2008.

RAFALSKY, J.A.; MORGANTE, M.; POWELL, W.; VOGEL, J.M.; TINGEY, S.V. Generating and using DNA markers in plants. In: BIRREN, B.; LAI, E. Analysis

of nonmammalian genomes – a practical guide. **New York: Academic Press**, 1996. p. 75-134.

ROCHA MC; GONÇALVES LSA; CORRÊA FM; RODRIGUES R; SILVA SL; ABBOUD ACS; CARMO MGF. 2009. Descritores quantitativos na determinação da divergência genética entre acessos de tomateiro do grupo cereja. **Ciência Rural** 39: 664-670.

RUKHSAR et al. Genetic variability, character association and genetic divergence studies in castor (*Ricinus communis* L.). **Annals of Agrarian Science**, Georgia, p. 1-6, fev. 2018.

SNEATH, P. H.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification**. San Francisco: W.H. Freeman, 1973. 573p.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, v.11 p.33-40. 1962.

VAZ PATTO, M. C; SATOVIC, Z.; PÊGO S.; FEVEREIRO P. Assessing the genetic diversity of Portuguese maize germoplasm using microsatellite markers. **Euphytica** 137:63-67, 2004.

VIEIRA, E. S. N. SCHUSTER, I. SILVA, R. B. da, OLIVEIRA, M. A. R. Variabilidade genética em cultivares de soja determinada com marcadores microssatélites em gel de agarose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v.44, n.11, p.1460-1466, nov. 2009.

ARTIGO 2

**GERAÇÃO DE HÍBRIDOS POR MEIO DE CRUZAMENTO DIALÉLICO EM
LINHAGENS CONTRASTANTES E SUPERIORES DE MAMONEIRA²**

GERAÇÃO DE HÍBRIDOS POR MEIO DE CRUZAMENTO DIALÉLICO EM LINHAGENS CONTRASTANTES E SUPERIORES DE MAMONEIRA

Autor: Helison Santos Brasileiro

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Simone Alves Silva

Co-orientadora: Dr^a. Edna Lôbo Machado

RESUMO: A formação de híbridos superiores torna-se contribuição valiosa no melhoramento genético da mamoneira, na sua utilização direta em cultivos comerciais e para a formação de populações segregantes a fim de condução de programa de melhoramento da espécie no desenvolvimento de novas cultivares produtivas. O estudo da capacidade combinatória de um número muito grande de genitores pode tornar-se inviável devido às várias combinações híbridas que necessitam ser obtidas. Neste contexto, análise dialélica contribui, principalmente, quando já se conhece a divergência entre os genitores, reduzindo o número de cruzamentos a serem incluídos no arranjo dialélico e, portanto, com possibilidade de obter combinações promissoras para obtenções de híbridos com potencial de ganhos genéticos efetivos. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi identificar híbridos superiores, via estimativa dos efeitos da capacidade geral e específica de combinação em linhagens homozigotas e divergentes de mamoneira, para utilização direta em plantios comerciais e para a detecção de populações segregantes superiores para a condução de um programa de melhoramento genético de *Ricinus communis* L. Os caracteres avaliados foram priorizados os de componentes produtivos e adaptativos da cultura, como o Florescimento (FLOR), a estatura de plantas (EST), o número e peso de frutos por planta (NFP e PFP), o número e peso de sementes por planta (NSP e PSP), o peso de cem sementes (P100) e a produtividade de grãos por hectare (PROD). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o pelo programa Genes com exploração da Capacidade geral e específica de combinação (CGC e CEC) obtida de um experimento em blocos casualizados, com quatro repetições e análise de variância com comparações de médias pelo teste de Tukey (1953) a 5% de probabilidade. Utilizou-se o método do dialélico parcial considerando análise de híbridos F1's, envolvendo oito linhagens, representadas por uma a três combinações híbridas

por linhagem, totalizando onze combinações híbridas. A metodologia de dialélico parcial demonstrou-se eficaz para o melhoramento genético de *R. communis* L e a seleção de cruzamentos com base nas capacidades gerais e específicas de combinação pode ser muito útil para obtenção das populações promissoras de melhoramento. Para as características avaliadas recomendam-se o envolvimento das linhagens nos cruzamentos específicos (UFRB79 x UFRB193), (UFRB36 x UFRB122), (UFRB 160 x UFRB36), (UFRB176 x UFRB248) e 7 x 5 (UFRB122 x UFRB79), para o desenvolvimento de híbridos produtivos e para possível formação de população segregante de *Ricinus communis* L.

Palavras chave: *Ricinus communis* L, Capacidade combinatória, divergência genética.

GENERATION OF HYBRIDS BY MEANS OF DIALLEL CROSSES IN CONTRASTING AND SUPERIOR LINES OF CASTOR BEAN

Author: Helison Santos Brasileiro

Advisor: Profa. Dr. Simone Alves Silva

Co-Advisor: Dr. Edna Lôbo Machado

ABSTRACT: The formation of higher hybrids makes a valuable contribution to the genetic improvement of the castor bean, its direct use in commercial crops and the formation of segregant populations in order to conduct a breeding program in the development of new productive cultivars. Studying the combinatorial ability of a very large number of parents may become impracticable due to the various hybrid combinations that need to be obtained. In this context, diallel analysis contributes mainly when the divergence between the parents is already known, reducing the number of crosses to be included in the diallel arrangement and, therefore, with the possibility of obtaining promising combinations for obtaining of hybrids with potential of effective genetic gains . Thus, the objective of this work was to identify superior hybrids, through estimation of the effects of general and specific combining ability on homozygous and divergent castor lineages, for direct use in commercial plantations and for the detection of superior segregant populations for the conduction of a The genetic characteristics of *Ricinus communis* L. were evaluated in relation to the productive and adaptive components of the crop, such as flowering (FLOR), plant height (EST), number and weight of fruits per plant (NFP and PFP) , number and weight of seeds per plant (NSP and PSP), weight of one hundred seeds (P100) and grain yield per hectare (PROD). The statistical analyzes were carried out using the Genes program with the General and Combination Specific Capability (CGC and ECC) obtained from a randomized block experiment with four replications and analysis of variance with Tukey test (1953) to 5% probability. The partial diallel method was used considering F1 hybrid analyzes, involving eight lines, represented by one to three hybrid combinations per line, totaling eleven hybrid combinations. Partial diallel methodology has been shown to be effective for the genetic improvement of *R. communis* L and selection of crosses based on general and specific

combination abilities may be very useful for obtaining promising populations of breeding. For the evaluated characteristics the involvement of the lineages in the specific crosses (UFRB79 x UFRB193), (UFRB36 x UFRB122), (UFRB 160 x UFRB36), (UFRB176 x UFRB248) and 7 x 5 (UFRB122 x UFRB79) are recommended for the development of productive hybrids and possible formation of a segregating population of *Ricinus communis* L.

Key words: *Ricinus communis* L, Combinatorial capacity, genetic divergence.

INTRODUÇÃO

A hibridação é uma das maneiras mais eficientes de explorar a variabilidade genética existente em muitas espécies (NASCIMENTO et al., 2004). Na condução de um programa de melhoramento por hibridação, um dos pontos mais importantes é estabelecer quais genitores deverão ser cruzados, já que o número de linhagens disponíveis para realização dos cruzamentos é muito grande, especialmente quando se pretende obter populações segregantes úteis, de onde seja possível extrair linhagens mais produtivas a partir do cruzamento entre genótipos endogâmicos melhorados, que, conseqüentemente, possuem altos níveis de produtividade (PEREIRA et al., 2007).

Portanto, a formação de híbridos superiores torna-se contribuição valiosa no melhoramento genético da mamoneira, na sua utilização direta em cultivos comerciais e para a formação de populações segregantes a fim de condução de programa de melhoramento da espécie para desenvolvimento de novas cultivares produtivas.

A avaliação da divergência genética de genitores é primordial na escolha de genitores para hibridações e formação de população segregante devido à exploração da heterose em recombinações gênicas. Assim como auxilia no direcionamento de cruzamentos promissores a serem avaliados em uma análise dialélica, reduzindo o número de genitores a serem hibridados e avaliados na formação de um arranjo dialélico viabilizando o estudo da capacidade combinatória para formação de híbridos.

A análise de cruzamentos dialélicos é comumente utilizada quando envolvem avaliação de caracteres quantitativos no melhoramento vegetal. Sua utilização tem origem a partir do desenvolvimento dos conceitos de capacidades geral e específica de combinação, estabelecidos por Sprague & Tatum (1942).

A capacidade combinatória refere-se ao comportamento de linhagens ou cultivares quando são usadas em combinações híbridas em um ou em vários sentidos, entre si. Associa-se com esse conceito a capacidade transgressiva dos genótipos e a resposta heterótica dos mesmos (SPRAGUE & TATUM,

1942). Para Allard (1956) a análise de componentes da capacidade combinatória geral e específica auxilia na escolha de genitores geneticamente divergentes envolvidos em esquemas de cruzamento, sobretudo quando se deseja identificar híbridos promissores e/ou desenvolver linhagens superiores a partir deles. Assim como, por meio do entendimento da capacidade geral e específica de combinação são permitidas escolhas das melhores combinações e o entendimento dos efeitos genéticos envolvidos na expressão de características de interesse (BERTAN et al., 2009).

Hayman (1954) e Griffing (1956) estabeleceu o conceito de cruzamentos dialélicos como uma técnica importantíssima para o melhoramento de plantas, uma vez que possibilita a recombinação de genes em genitores para reorganização da variabilidade disponível, permitindo a obtenção de novos genótipos.

Entretanto, diversos métodos são utilizados para a análise dialélica, relatam que dentre elas, um dos mais empregados é a proposta por Griffing (1956), em que são estimados os efeitos e as somas de quadrados de efeitos da capacidade geral e específica de combinação, em que, a capacidade geral de combinação (CGC) refere-se ao comportamento médio de uma linhagem em uma série de cruzamentos, e a capacidade específica de combinação (CEC), refere-se ao comportamento particular de duas linhagens quando cruzadas entre si (Vencovsky, 1970), ou seja, a CGC de um parental corresponde ao desvio de seu desempenho médio em combinações híbridas. Quando existe predominância de CGC, isso indica que no controle do caráter há predominância dos efeitos aditivos. Já a CEC é estimada como desvio do comportamento em relação ao que seria esperado com base na CGC. Assim, ela avalia a contribuição dos efeitos não aditivos, dominância ou epistasia, na expressão dos caracteres (CRUZ et al., 2004). Existe também a metodologia proposta por Hayman (1954), onde informa o mecanismo básico de herança do caráter em estudo, os valores genéticos dos genitores utilizados e o limite de seleção, e a proposta por Gardner e Eberhart (1966), no qual são avaliados os efeitos de variedades e heterose varietal, onde a CEC está associada aos efeitos gênicos não-aditivos, e a CGC associada à ação aditiva dos genes (Cruz et al., 2004).

Entretanto, devido o estudo da capacidade combinatória de um número muito grande de genitores pode tornar-se inviável devido às várias combinações híbridas que necessitam ser obtidas (Russel e Eberhart, 1973). Assim, surgiu a proposta da metodologia do dialélico circulante (Brown, 1948) por ser um tipo de dialélico, no qual o estudo da capacidade geral e específica de combinação é realizado por meio da análise de uma amostra de todos os possíveis cruzamentos entre os genitores, ao contrário dos dialelos completos, onde todas as combinações entre genitores são incluídas, além dos próprios genitores e híbridos recíprocos (Cruz et al., 2004).

Embora o uso da análise de cruzamentos dialélicos forneça a melhor e mais completa informação sobre o comportamento de parentais em combinações híbridas, por permitir a estimativa de diferentes componentes da variância genotípica e determinação da ação gênica predominante (CRUZ et al., 2004), esta estratégia tem sido pouco utilizada na cultura da mamoneira.

De modo geral, a escolha dos melhores parentais somente a partir de características desejáveis não assegura a obtenção de híbridos heteróticos e de progênies com elevada frequência de genes de interesse. Desta forma, o progresso genético oriundo dos cruzamentos entre parentais selecionados apenas com base no fenótipo poderá ser aleatório e de difícil repetibilidade (JUNG et al., 2007). Para solucionar este problema, os delineamentos genéticos, especialmente os dialelos têm particular importância, uma vez que o potencial dos parentais para os programas de melhoramento é determinado pela capacidade geral de combinação e por isso o melhorista pode selecionar aqueles que mostrem características superiores nas combinações híbridas (FIDELIS et al., 2010).

Assim como, a identificação de genótipos divergentes antecedendo a análise dialélica tem sido uma estratégia promissora para a viabilidade do número de cruzamentos a serem utilizados no arranjo dialélico. Neste contexto, análise dialélica contribui, principalmente, quando já se conhece a divergência entre os genitores, reduzindo o número de cruzamentos a serem incluídos no arranjo dialélico e, portanto, com possibilidade de obter combinações promissoras para obtenções de híbridos com potencial de ganhos genéticos efetivos.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi identificar híbridos superiores, via estimativa dos efeitos da capacidade geral e específica de combinação em linhagens homozigotas e divergentes de mamoneira, para utilização direta em plantios comerciais e para a detecção de populações segregantes superiores para a condução de um programa de melhoramento genético de *Ricinus communis* L.

MATERIAL E MÉTODOS

Os híbridos em estudo foram obtidos a partir do cruzamento entre as linhagens elites (UFRB79, UFRB176, UFRB160, UFRB36, UFRB255, UFRB193 e UFRB122) do grupo I e as linhagens (UFRB36, UFRB122, UFRB193, UFRB248, UFRB79 e UFRB176) do grupo II desenvolvidas pelo programa de melhoramento genético do Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - NBIO/UFRB, na cidade de Cruz das Almas, Bahia, Brasil.

As linhagens eleitas para realização dos cruzamentos foram selecionadas levando-se em conta suas distâncias genéticas, sendo selecionadas as linhagens mais distantes geneticamente entre si, de acordo a matriz de dissimilaridade obtida utilizando informações moleculares SSR previamente analisada (Tabela 1).

A validação da matriz foi feita de acordo o coeficiente de correlação cofenético (SOKAL; ROHLF, 1962) que mede quanto à matriz de distância explica a matriz de agrupamento, sendo que a correlação entre a matriz de distância e a matriz de agrupamento gerada no capítulo I foi de 87,65%, considerada alta e adequada. Para Vaz Patto (2004), $r > 0,56$ é considerada ideal, refletindo uma boa concordância entre a matriz de dissimilaridade e a de agrupamento.

Tabela 1 - Distâncias genéticas obtidas por meio de marcadores moleculares do tipo SSR na hibridação (H1 a H17).

Cruzamento	Código	Distância	Cruzamento	Código	Distância
176 x 248	H1	0,9821	79 x 122	H10	0,9615
36 x 248	H2	1,0000	176 x 79	H11	0,9773
255 x 176	H3	1,0000	176 x 193	H12	1,0000
160 x 176	H4	0,8462	122 x 79	H13	0,9615
193 x 176	H5	1,0000	36 x 193	H14	0,9875
255 x 122	H6	1,0000	79 x 193	H15	0,9833
193 x 36	H7	0,9875	36 x 176	H16	1,0000
36 x 122	H8	1,0000	160 x 36	H17	0,9833
79 x 36	H9	0,9167			

Observando os dados da tabela 1, pode-se verificar que todas as médias do cruzamento são acima de 0.8, ou seja, próximas a um, o que garante um alto grau de dissimilaridade entre as linhagens cruzadas. Cada cruzamento obteve um mínimo de doze sementes, permitindo a semeadura de três sementes por bloco com posterior desbaste, deixando a planta mais vigorosa. Alguns cruzamentos foram obtidos em telado, em balde com substrato estéril e outros em campo.

Os cruzamentos foram feitos realizando a emasculação das flores masculinas do cacho da planta receptora de pólen; de forma manual, esfregando-se o pólen do doador no estigma da planta (cacho) receptor; e, em seguida a cobertura do cacho com sacos de TNT (tecido não tecido), amarrando-os e identificando-os.

A área para a instalação do experimento foi devidamente preparada, com realização de aração e gradagem, a partir da análise de solo, foi realizada a correção de acidez e, posteriormente a adubação na cova de plantio, com a dosagem de 20 kg.ha⁻¹ de N, 80 kg.ha⁻¹ de P e 40 kg.ha⁻¹ de K. O plantio dos híbridos foi realizado no dia 11 de maio de 2017 por meio de semeadura direta, no campo experimental do NBIO – Núcleo de Melhoramento genético e Biotecnologia, no campus da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB, Cruz das Almas, Bahia, utilizando três sementes por cova, com posterior desbaste.

As coordenadas geográficas são 39°06'26 latitude sul e 12°40'39" longitude oeste, com altitude de 226 metros. Segundo a classificação de Köppen o clima é do tipo tropical quente e úmido. A precipitação média é de

1.224 mm por ano, a temperatura média anual é de 24,5° C e a umidade relativa do ar de aproximadamente 82%. O solo é do tipo latossolo amarelo distrófico com baixos pH e CTC (Ribeiro et al., 1995). O experimento conteve quatro blocos espaçados três metros entre si, cada um com dezessete fileiras distribuídas ao acaso, mais bordaduras, com três metros de espaçamento entre si e um metro entre planta. Em cada fileira foram distribuídas dez plantas, mais duas bordaduras. Foram realizadas capinas, roçagens e aplicação de fungicidas de forma periódica no experimento.

Durante todo o experimento foram feitas capinas para o controle de plantas daninhas e aplicações do fungicida sumilex plus 500 para controlar o mofo cinzento (*Amphobotrys ricini*), que associado a um ambiente de alta umidade relativa do ar, a exemplo de Cruz das Almas, propicia sua multiplicação e colonização dos seus esporos, provocando um baixo potencial produtivo e elevado número de racemos abortados (LIMA et al., 2010; BAHIA et al., 2008).

Em dezembro de 2017 foi feita a colheita de todo o experimento, para isso utilizou-se uma tesoura de poda, cortando os cachos de todas as plantas na parte basal e separando-os em sacos plásticos da seguinte forma: o cacho um, era colocado separadamente em um saco plástico sendo feito da mesma forma para os cachos três e quatro tendo o cuidado de anotar a identificação da planta, do cacho e do bloco que estava sendo efetuada a colheita. Do cacho cinco em diante, todos eram acondicionados no mesmo saco plástico. O segundo cacho foi utilizado para a autofecundação, visando a obtenção de sementes para a próxima geração, sendo coberto com sacos de TNT e identificados de forma específica.

Os caracteres morfoagronômicos utilizados na análise dialélica foram avaliados de acordo com os descritores de mamoneira propostos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e outros sugeridos pelo Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnológico (NBIO). Sendo priorizados os de componentes produtivos e adaptativos da cultura, como o Florescimento (FLOR), a estatura de plantas (EST), o número e peso de frutos por planta (NFP e PFP), o número e peso de sementes por planta (NSP e PSP), o peso de cem sementes (P100) e a produtividade de grãos por hectare (PROD).

Utilizou-se o método do dialélico parcial considerando análise de híbridos F1's, envolvendo oito linhagens, representadas por uma a três combinações híbridas por linhagem, totalizando onze combinações híbridas.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o pelo programa Genes versão 2007 (CRUZ, 2006b), com exploração da Capacidade geral e específica de combinação (CGC e CEC) obtida de um experimento em blocos casualizados, com quatro repetições e análise de variância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve significância a 5% de probabilidade de erro, pelo teste F, na análise de variância, para os quadrados médios de tratamento (QM), para a maioria dos caracteres avaliados, com exceção do caráter produtividade, (Tabela 2), indicando existência de variabilidade tanto nas linhagens (parentais), quanto nos híbridos formados da sua combinação.

Tabela 2. Análise de variância dos caracteres (FLOR) Nº de dias da germinação ao florescimento (EST) Estatura, (NSP) Número de sementes por planta, (PSP) Peso de semente por planta, (P100) Peso de 100 sementes, (NFP) Número de frutos por planta, (PFP) Peso de frutos por planta e (PROD) Produtividade.

FV	Quadrados Médios							
	FLOR	EST	NSP	PSP	P100	NFP	PFP	PROD
TRATAMENTOS	4411.57 ^{ns}	12274.25 ^{ns}	16182.76 ^{ns}	7422.39 ^{ns}	4898.35 ^{ns}	2011.04*	8108.08 ^{ns}	82452.87 ^{ns}
PAIS	216.14*	2971.19 ^{ns}	15157.11 ^{ns}	6123.27 ^{ns}	6819.77 ^{ns}	2271.28	7108.41 ^{ns}	68021.5 ^{ns}
GRUPO I	192.06 ^{ns}	1269.34 ^{ns}	4539.25*	3161.83*	1638.97*	636.24**	1403.11*	35122.43 ^{ns}
GRUPO II	157.96**	5604.16 ^{ns}	30872.9*	10804.14 ^{ns}	13459.45 ^{ns}	4604.3*	14824.28 ^{ns}	120021.4 ^{ns}
GRUPO I vs II	651.48*	17.42**	285.32**	487.57**	4706.11*	416.48**	2760.89*	5416.43 ^{ns}
PAI vs CRUZ	53277.14 ^{ns}	146107.05 ^{ns}	125634.24 ^{ns}	43864.32 ^{ns}	47083.89 ^{ns}	15757.54 ^{ns}	67786.36*	487262.58 ^{ns}
CRUZAMENTO	4447.65 ^{ns}	11732.88 ^{ns}	13813.4 ^{ns}	6913.79 ^{ns}	3307.08 ^{ns}	1599.59*	6945.1 ^{ns}	76803.28 ^{ns}
C.G.C. I	3024.77*	7766.85 ^{ns}	13443.34 ^{ns}	6889.93 ^{ns}	3999.97*	1634.49 ^{ns}	4742.52 ^{ns}	76541.14 ^{ns}
C.G.C. II	1846.13 ^{ns}	5591.54 ^{ns}	11134.78**	4898.6*	1217.26**	1400.32*	2949.01**	54413.15 ^{ns}
C.E.C. I xII	5165.82 ^{ns}	13549.64 ^{ns}	14333.85 ^{ns}	7254.42 ^{ns}	3516.8*	1625.82 ^{ns}	8051.62 ^{ns}	80587.4 ^{ns}
RESÍDUO	1	1	1	1	1	1	1	

^{ns} não significativo; * significativo entre 1 e 5% de probabilidade; ** significativo abaixo de 1% de probabilidade

As somas de quadrados de tratamentos foram desdobradas em capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC) para avaliar as combinações híbridas e seus desempenhos quanto aos caracteres produtivos e adaptativos da mamoneira. O efeito da capacidade geral (CGC) apresentado na Tabela 3 revelou significância para todos os caracteres avaliados nos híbridos UFRB79 e UFRB36 do grupo I e UFRB122 no grupo II, indicando elevada importância dos efeitos gênicos aditivos na expressão desses caracteres e que existe variabilidade em pelo menos um genitor diferindo dos demais (RODRIGUES; LEAL; PEREIRA, 1998; PÁDUA et al., 2010).

Já a presença de efeito significativo nos caracteres para os quadrados médios relativo à CEC, indicam que efeitos gênicos não aditivos estão envolvidos no controle dos caracteres avaliados (SIBIYA et al., 2011).

A participação relativa da CGC foi elevada para o caráter produtividade, com os híbridos UFRB79 e UFRB193 possuindo os maiores valores positivos da CGC, 132.27 e 54.27 para os dois grupos respectivamente (Tabela 3). Esta é uma manifestação clara da predominância dos efeitos genéticos aditivos no controle dos componentes adaptativos e produtivos avaliados. Isso implica que a seleção artificial de plantas com as características desejáveis permitirá o desenvolvimento de progênies superiores (RAMALHO; SANTOS; PINTO, 2008, THANH et al., 2010).

Tabela 3. Valores estimados dos efeitos da capacidade geral de combinação (CGC) de oito progenitores de *R. communis*, com base nas médias de oito características agrônômicas. Cruz das Almas, 2018.

Genitores	CGC							
	Grupo 1							
	FLOR	EST	NSP	PSP	P100	NFP	PFP	PROD
1 - UFRB79	8.09	24.44	36.85	39.68	19.36	14.14	11.43	132.27
2 - UFRB176	0.34	17.91	-7.99	-1.95	21.13	-2.11	7.08	-6.51
3 - UFRB160	-2.48	-19.38	-27.77	-4.71	-12.37	-10.83	-14.19	-15.71
4 - UFRB36	23.83	18.39	38.6	8.10	1.86	12.14	24.56	27.01
5 - UFRB255	-6.65	-5.10	-0.67	-7.41	-8.93	-1.85	4.83	-24.70
6 - UFRB193	-6.25	-6.46	-15.27	-15.01	-5.35	-3.97	-15.64	-50.05
7 - UFRB122	-16.88	-29.8	-23.72	-18.69	-15.69	-7.49	-18.07	-62.29

Genitores		Grupo 2						
1 - UFRB36	5.22	2.36	6.43	9.00	1.47	0.65	-6.15	30.01
2 - UFRB122	0.49	13.54	40.59	15.83	0.77	14.92	18.89	52.77
3 - UFRB193	-0.67	11.89	3.86	16.28	12.89	1.47	8.20	54.27
4 - UFRB248	-9.63	-23.61	-22.86	-15.44	-8.81	-7.63	-11.25	-51.46
5 - UFRB79	-10.11	-16.83	-17.97	-12.10	0.24	-6.33	-10.60	-40.34
6 - UFRB176	14.70	12.64	-10.05	-13.57	-6.57	-3.08	0.90	-45.25

(FLOR) N° de dias da germinação ao florescimento (EST) Estatura, (NSP) Número de sementes por planta, (PSP) Peso de semente por planta, (P100) Peso de 100 sementes, (NFP) Número de frutos por planta, (PFP) Peso de frutos por planta e (PROD) Produtividade.

As melhores combinações híbridas a partir da observação das capacidades geral (CGC) e específica (CEC) de combinação para todas as oito características avaliadas, demonstram que as CGC's foi maior na grande maioria do que a CEC, indicando uma maior participação da ação gênica aditiva no controle dos caracteres (MEDEIROS, 2016). Isto é importante e indica possibilidade de combinações promissoras para formação de híbridos com ganho na seleção.

A obtenção de uma estimativa para valores positivos ou negativos, muito baixo, indica que a CGC do genitor com base em seus cruzamentos não difere da média geral. Porém, quando essas estimativas são elevadas, o genitor em questão é superior ou inferior aos demais genitores do dialético (CRUZ et al., 2012). Assim, com relação à discriminação híbrida, as melhores combinações devem ser aquelas com maior valor, ou seja, genitores que apresentem alta CGC (CRUZ et al., 2012).

Tabela 4. Valores estimados dos efeitos da capacidade específica de combinação (CEC) entre dois grupos G1 com sete linhagens e G2 com seis linhagens baseado nas médias de oito caracteres agrônômicos avaliados.

Combinações		CEC							
		FLOR	EST	NSP	PSP	P100	NFP	PFP	PROD
1	1	33.15	71.98	92.83	18.06	29.27	28.65	27.18	60.22
1	2	41.08	49.60	8.67	-14.20	10.70	10.08	-51.77	-47.33
1	3	37.75	67.35	90.40	152.22	69.08	29.41	124.39	507.37
1	4	-29.38	-48.63	-58.06	-50.29	-32.59	-20.77	-29.00	-167.64
1	5	-28.89	-55.41	-62.95	-53.63	-41.64	-22.06	-29.64	-178.76
1	6	-53.72	-84.89	-70.88	-52.15	-34.83	-25.32	-41.15	-173.85
2	1	-36.49	-68.08	-42.51	-33.10	-44.65	-12.81	-29.74	-110.32
2	2	-31.76	-79.25	-76.67	-39.92	-43.95	-27.07	-54.79	-133.08

2	3	33.00	82.58	6.25	-9.55	14.64	2.31	18.89	-31.86
2	4	40.96	83.20	96.48	51.62	36.07	37.57	64.71	172.08
2	5	40.25	59.91	42.49	41.47	74.49	9.06	37.73	138.25
2	6	-45.97	-78.35	-26.03	-10.51	-36.60	-9.06	-36.80	-35.05
3	1	59.54	35.81	36.66	85.90	33.47	3.83	54.51	286.32
3	2	-28.92	-41.95	-56.89	-37.17	-10.43	-18.35	-33.52	-123.88
3	3	-27.75	-40.31	-20.16	-37.62	-22.55	-4.89	-22.82	-125.38
3	4	-18.80	-4.80	6.56	-5.89	-0.85	4.20	-3.37	-19.65
3	5	-18.31	-11.58	1.67	-9.23	-9.90	2.91	-4.01	-30.77
3	6	34.25	62.84	32.15	4.01	10.27	12.29	9.21	13.37
4	1	-59.97	-68.56	-89.11	-43.16	-25.38	-27.06	-47.23	-143.85
4	2	19.45	96.45	155.62	93.72	33.94	56.66	132.35	312.39
4	3	17.92	28.10	27.65	-19.16	13.62	7.05	-38.29	-63.87
4	4	41.28	1.41	-21.01	-4.72	7.07	-14.45	-8.53	-15.74
4	5	-44.63	-49.36	-64.70	-22.05	-24.14	-20.06	-42.77	-73.49
4	6	25.94	-8.04	-8.43	-4.62	-5.12	-2.13	4.48	-15.41
5	1	-29.49	-45.06	-49.83	-27.64	-14.57	-13.07	-27.49	-92.14
5	2	39.83	61.55	99.60	47.63	34.30	25.58	69.44	158.76
5	3	-23.59	-54.59	-47.26	-34.92	-25.99	-13.88	-41.85	-116.40
5	4	-14.63	-19.08	-20.53	-3.19	-4.29	-4.77	-22.39	-10.66
5	5	-14.14	-25.86	-25.42	-6.53	-13.34	-6.07	-23.04	-21.78
5	6	42.02	83.05	43.45	24.66	23.89	12.23	45.35	82.22
6	1	52.5	94.29	78.76	16.30	29.68	27.88	27.36	54.31
6	2	-25.16	-54.87	-69.39	-26.86	-17.45	-25.21	-32.06	-89.54
6	3	-23.99	-53.23	-32.66	-27.31	-29.57	-11.75	-21.37	-91.04
6	4	-15.03	-17.71	-5.93	4.40	-7.87	-2.65	-1.91	14.69
6	5	-14.54	-24.50	-10.82	1.07	-16.92	-3.94	-2.56	3.57
6	6	262.23	56.02	40.05	32.40	42.15	15.68	30.55	108.00
7	1	-19.25	-20.36	-26.78	-16.36	-7.82	-7.42	-4.59	-54.54
7	2	-14.52	-31.54	-60.94	-23.19	-7.11	-21.69	-29.64	-77.30
7	3	-13.35	-29.89	-24.21	-23.64	-19.23	-8.24	-18.94	-78.80
7	4	-4.4	5.61	2.51	8.08	2.46	0.86	0.50	26.93
7	5	80.28	106.83	119.72	48.90	31.47	40.17	64.32	162.99
7	6	-28.74	-30.64	-10.30	6.21	0.22	-3.68	-11.64	20.72

(DIAS) N° de dias da germinação ao florescimento, (EST) Estatura, (NSP) Número de sementes por planta, (PSP) Peso de semente por planta, (P100) Peso de 100 sementes, (NFP) Número de frutos por planta, (PFP) Peso de frutos por planta, (PROD) Produtividade.

Na tabela 4 verifica-se que o híbrido resultante do cruzamento 1 x 3 (UFRB79 x UFRB193) obtiveram CEC maior do que os demais híbridos e superior aos parentais para o caráter Produtividade, destacando o componente adaptativo como estatura reduzida e os componentes produtivos como peso de frutos e sementes por planta. Também merecem destaque os híbridos 4 x 2 (UFRB36 x UFRB122), 3 x 1 (UFRB 160 x UFRB36), 2 x 4 (UFRB176 x UFRB248) e 7 x 5 (UFRB122 x UFRB79) em que apresentaram valores positivos e elevados de produtividade com contribuição da maioria dos componentes adaptativos e produtivos, ambos superiores aos seus parentais. Isto demonstra potencial das linhagens para exploração da heterose e aumento de produtividade para a cultura.

CONCLUSÃO

A metodologia de dialélico parcial demonstrou-se eficaz para o melhoramento genético de *R. communis* L e a seleção de cruzamentos com base nas capacidades gerais e específicas de combinação pode ser muito útil para obtenção das populações promissoras de melhoramento. Para as características avaliadas recomendam-se o envolvimento das linhagens nos cruzamentos específicos (UFRB79 x UFRB193), (UFRB36 x UFRB122), (UFRB 160 x UFRB36), (UFRB176 x UFRB248) e 7 x 5 (UFRB122 x UFRB79), para o desenvolvimento de híbridos produtivos e para possível formação de população segregante de *Ricinus communis* L.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLARD, R. W. **Formulas and tables facilitate the calculation of recombination values in heredity**. Hilgardia, Berkeley, v. 24, n. 10, p. 235-278, 1956.

BAHIA, H. F.; SILVA, S. A.; FERNANDEZ, L. G.; LEDO, C. A. S.; MOREIRA, R. F. C. **Divergência genética entre cinco cultivares de mamoneira**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.43, n.3, p.357-362, mar. 2008.

BERTAN, I. et al. Morphological, pedigree, and molecular distances and their association with hybrid wheat performance. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, p.155-163, 2009.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: Imprensa Universitária, 2004. 480 p.

CRUZ, C.D. Programa Genes: Biometria. Viçosa: UFV. 2006b. 382p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4ª ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2012.

FIDELIS, R R.; MIRANDA, G. V.; FALUBA, J. de S. Capacidade de combinação de populações de milho tropicais sob estresse de baixo nitrogênio. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 3, p. 358-366, 2010.

GRIFFING, B.A. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal of Biological Sciences**, v.9, p.463-493, 1956.

HAYMAN, B.I. The theory and analysis of diallel crosses. **Genetics**, v.39, p.789-809, 1954.

KUREK, A. J.; CARVALHO, F. I. F. DE; ASSMANN, I. C.; CRUZ, P. J. Capacidade combinatória como critério de eficiência na seleção de genitores em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 4, p. 645–651, 2001.

JUNG, M. S. *et al.* Capacidade geral e específica de combinação de caracteres do fruto do maracujazeiro doce (*Passiflora alata* Curtis). **Ciencia Rural**, v. 37, n. 4, p. 963-969, 2007.

LIMA, J. F.; PEIXOTO, C. P.; PEIXOTO, M. F.; SILVA, A. L. L.; BORGES, V. P.; MACHADO, G. Índices fisiológicos de cultivares de mamoneira em dois períodos de cultivo em baixa altitude no recôncavo sul baiano. IV Congresso Brasileiro de Mamona e I Simpósio Internacional de Oleaginosas Energéticas. Inclusão Social e Energia: **Anais...**Campina grande: Embrapa Algodão, 2010. p. 904-914.

MEDEIROS, Correia Alexandra. **Diversidade genética e análise dialélica de progenitores no melhoramento genético de Coffea arabica** / Alexandra Medeiros Correia. – Viçosa, MG, 2016.

NASCIMENTO, I. R. *et al.* Capacidade combinatória e ação gênica na expressão de caracteres de importância econômica em pimentão. **Ciência Agrotécnica**, v. 28, n. 2, p. 251-260, 2004.

PÁDUA, G.P. de; ZITO, R.K.; ARANTES, N.E.; FRANÇA NETO, J. de B. Influência do tamanho da semente na qualidade fisiológica e na produtividade da cultura da soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, p.9-16, 2010. DOI: 10.1590/ S0101-31222010000300001.

PEREIRA, H. S. *et al.* Informações fenotípicas e marcadores microsatélites de QTL na escolha de populações segregantes de feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 5, p. 707-713, 2007.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. **Genética na Agropecuária**. 4. ed. Lavras: UFLA, 2008. 460 p.

RIBEIRO, L. P.; SANTOS, D. M. B.; LIMA NETO, I. de A.; BARBOSA, M. F.; CUNHA, T. J. F. **Levantamento detalhado dos solos, capacidade de uso e classificação de terras para irrigação da Estação de Plasticultura da Universidade Federal da Bahia/Politeo em Cruz das Almas (BA)**. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.19, n.1, p.105-113, 1995.

RODRIGUES, R.; LEAL, N. R.; PEREIRA, M. G. Análise dialéctica de seis características agronômicas em *Phaseolus vulgaris* L. **Bragantia**, v. 57, n. 2, p. 241-250, 1998.

SIBIYA, J. et al. Combining ability analysis for *Phaeosphaeria* leaf spot resistance and grain yield in tropical advanced maize inbred lines. **Field Crops Research**, v. 120, n. 1, p. 86-93, 2011.

SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, Berlin, v.11, n.1, p.30-40, 1962.

SPRAGUE, G.F.; TATUM, L.A. General versus specific combining ability in single crosses of corn. **Journal of the American Society of Agronomy**, Madison, v.34, n.10, p.923-932, 1942.

HANG DU THANH et al., 2010. Livest. Res. **Rural Dev.**, 22 (4): 68.

TUKEY, J.W. The problem of multiple comparisons. **Mimeographs Princeton University**, Princeton, N.J., 1953.

VAZ PATTO, M. C; SATOVIC, Z.; PÊGO S.; FEVEREIRO P. Assessing the genetic diversity of Portuguese maize germoplasm using microsatellite markers. **Euphytica** 137:63-67, 2004.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os marcadores moleculares do tipo SSR foram eficientes na determinação da diversidade genética em população avançada de mamoneira, favorecendo a escolha de linhagens com maior dissimilaridade para compor o esquema de dialelo parcial para geração de híbridos com base na capacidade geral de combinação (CGC) e na capacidade específica de combinação (CEC).