

# Caracterização molecular, morfoagronômica e de qualidade de grãos de genótipos elite de cevada irrigada no Cerrado<sup>1</sup>

Renato Fernando Amabile<sup>2</sup>, Fábio Gelape Faleiro<sup>3</sup>, Eduardo Alano Vieira<sup>4</sup>, José Ricardo Peixoto<sup>5</sup>, Flávio Capettini<sup>6</sup>, Walter Quadros Ribeiro Júnior<sup>7</sup>

## Resumo

O objetivo deste trabalho foi gerar informações moleculares, morfoagronômicas e de qualidade de grãos, por meio da caracterização de genótipos elite de cevada irrigada e de estimativas de parâmetros genéticos, visando explorar a variabilidade genética existente e permitir a seleção de genitores e o desenvolvimento de variedades mais produtivas, com maior qualidade malteira e adaptadas a diferentes condições edafoclimáticas sob irrigação no Cerrado. Foram avaliados 30 genótipos elite de cevada, hexástica e dística, provenientes da Coleção de Trabalho da Embrapa Cerrados (Planaltina-DF), de origens diversas, adotando-se o delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro repetições, sob sistema de irrigação convencional. A variabilidade genética foi estimada utilizando 12 caracteres morfoagronômicos quantitativos, 10 caracteres de qualidade malteira e com base em 160 marcadores moleculares RAPD. Foram obtidos 160 marcadores RAPD, dos quais 141 (88,12%) foram polimórficos revelando a existência de elevada variabilidade genética, passível de ser utilizada no melhoramento genético. A análise de agrupamento mostrou uma tendência de agrupamento entre os genótipos mexicanos e estadunidenses, bem como de genótipos hexásticos. Observou-se a existência de variabilidade genética para caracteres qualitativos malteiros, sendo que os caracteres qualitativos que mais contribuíram foram o nitrogênio solúvel e  $\beta$ -glucanas. Em relação às características morfoagronômicas, as que mais contribuíram para a variabilidade foram a área foliar da folha bandeira e o espigamento, enquanto o teor de proteína e o acamamento foram as que menos contribuíram. Foi verificada uma tendência de agrupamento dos materiais dísticos e hexásticos. As distâncias estimadas, por meio de marcadores moleculares e caracteres qualitativos e quantitativos, foram fracamente correlacionados. Os índices de seleção, baseado no ideótipo e de Elston, e a análise de agrupamento oportunizaram a seleção de genótipos promissores e indicação de cruzamentos para maximizar efeitos heteróticos e complementaridade gênica no programa de melhoramento genético da cevada irrigada no Cerrado. Como resultado finalístico desse trabalho, foi selecionada a BRS Savanna, para o cultivo em Goiás, Minas Gerais e no Distrito Federal.

## Introdução

A versatilidade da cevada (*Hordeum vulgare* L.) em adaptar-se a diversos ambientes e a sua importância econômica proporcionou sua introdução no Cerrado, como cultura irrigada de inverno, na década de 70. É uma cultura alternativa ao sistema de produção irrigado do Cerrado, mostrando boa adaptação às condições edafoclimáticas, baixa incidência de doenças, elevado potencial produtivo e classificação dos grãos. Do ponto de vista industrial, a cevada produzida no Cerrado apresenta sementes limpas e sem período de dormência, podendo ser malteada logo depois da colheita (Amabile 2007). Contudo, o êxito da sua inserção dentro do sistema de produção da região necessita de estudos contínuos e direcionados ao desenvolvimento de cultivares mais produtivas, com maior qualidade malteira e mais adaptadas. Torna-se fundamental um maior conhecimento sobre os recursos genéticos de cevada, mediante caracterização agrônômica e de qualidade e aliando o emprego de técnicas moleculares, o qual impactará positivamente e contribuirá para os programas de seleção e avaliação de acessos da cultura que atendam às exigências do sistema produtivo irrigado, fixando a cevada como alternativa agrônômica e econômica a região.

---

<sup>1</sup> Parte da tese de doutorado do primeiro autor

<sup>2</sup> Pesquisador da Embrapa Cerrados – CPAC - EMBRAPA/Planaltina. e-mail:renato.amabile@embrapa.br

<sup>3</sup> Pesquisador da Embrapa Cerrados – CPAC - EMBRAPA/Planaltina. e-mail:fabio.faleiro@embrapa.br

<sup>4</sup> Pesquisador da Embrapa Cerrados – CPAC - EMBRAPA/Planaltina. e-mail:eduardo.alano@embrapa.br

<sup>5</sup> Professor Adjunto da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – UnB/Brasília. e-mail: peixoto@unb.br

<sup>6</sup> Pesquisador do International Center for Agricultural Research in the Dry Areas - ICARDA/Aleppo. e-mail: f.capettini@cgiar.org

<sup>7</sup> Pesquisador da Embrapa Cerrados – CPAC - EMBRAPA/Planaltina. e-mail:Walter.quadros@embrapa.br

Uma das formas de avaliar a estimativa da diversidade genética em um conjunto de genótipos de cevada é através do estudo baseado em caracteres fenológicos e quantitativos (Manjunatha et al. 2007; Shakhathreh et al. 2010), bem como alicerçado em determinações analíticas de qualidade malteira (Evans et al. 2010). Do mesmo modo, marcadores RAPD são utilizados frequentemente no estudo da variabilidade genética de cevada, por consistirem uma adequada ferramenta para avaliação da constituição genômica de um genótipo e avaliação da variabilidade genética intra-específica (Todorovska et al 2003; Abdellaoui et al. 2007; Karim et al. 2009).

O objetivo deste trabalho foi gerar informações moleculares, morfoagronômicas e de qualidade de grãos, por meio da caracterização de genótipos elite de cevada irrigada e de estimativas de parâmetros genéticos, visando explorar a variabilidade genética existente e permitir o desenvolvimento de variedades mais produtivas, com maior qualidade malteira e adaptadas a diferentes condições edafoclimáticas sob irrigação no Cerrado.

## Material e Métodos

O experimento foi conduzido, sob sistema de irrigação convencional, no Campo Experimental da Embrapa Cerrados, Planaltina-DF, em 2009, situada a 15°35'30'' de latitude Sul e 47°42'30'' de longitude Oeste, numa altitude de 1.007 m, num LATOSSOLO VERMELHO Distrófico típico, argiloso. Foram avaliados 39 acessos elite de cevada de diversas origens, dística e hexástica, cervejeira e nua.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com quatro repetições. As parcelas foram de 6 linhas de 5 metros de comprimento, espaçadas 20 cm entre si, com a área útil de 4,8 m<sup>2</sup> para cada parcela, com uma densidade de 300 plantas m<sup>2</sup>.

As irrigações, por aspersão, foram efetuadas com base na umidade volumétrica do solo. A quantidade de água por irrigação foi calculada com base nas leituras diárias da sonda de perfil, quando a umidade atingia valores em torno de 0,26 cm<sup>3</sup>.cm<sup>-3</sup> (0,10 m), com uma lâmina líquida total de irrigação de 420 mm.

Para a obtenção dos marcadores moleculares RAPD, amostras de DNA genômico de cada genótipo foram extraídas e amplificadas via PCR, utilizando 15 iniciadores decâmeros. Os marcadores obtidos foram codificados em uma matriz de dados binários (Faleiro 2007).

Foram avaliados os seguintes caracteres morfoagronômicos do colmo principal: 1. DNR - distância do último nó à ráquis; 2. DFBR - distância da folha bandeira à ráquis; 3. CESP - comprimento da espiga; 4. NGEPS - número de grãos por espiga; 5. AFB - área da folha bandeira; e ainda: 6. ESP - espigamento; 7. ALT - altura de plantas; e ainda: 1. ACAM - grau de acamamento; 2. REND - rendimento estimado de grãos; 3. PMS - peso de mil sementes; 4. PROT - teor de proteína total e 5. CLASS - classificação comercial de primeira. A análise de variância e estimativa da distância generalizada de Mahalanobis (D<sub>2</sub>), foram realizadas com o auxílio do programa Genes (Cruz 2001).

As determinações analíticas de qualidade malteira foram: teor de proteína total dos grãos de classificação comercial de primeira, rendimento de extrato, índice de Hartong VZ, viscosidade 8,6 °P, cor após fervura (EBC), teor de nitrogênio solúvel, índice de Kolbach, friabilidade, vidrados e beta glucanas, de acordo com a European Brewery Convention (1987). As distâncias euclidianas médias entre os 30 genótipos elite e o ideótipo foram estimadas, com o auxílio do programa Genes (Cruz 2001) e estimou-se um índice de seleção baseado num ideótipo.

Na sequência, foram obtidas as matrizes de distância/dissimilaridade genética com base nos caracteres quantitativos, qualitativos e marcadores RAPD, a partir das quais foram realizadas análises de agrupamento utilizando como critério o método *Unweighted Pair-group Method Arithmetic Average* (UPGMA) e dispersão gráfica com base no método das coordenadas principais. O ajuste entre as matrizes de distância/dissimilaridade e os respectivos dendrogramas foi estimado pelo coeficiente de correlação cofenética (r), com o auxílio do programa computacional NTSYS pc 2.1 (Rohlf 2000).

## Resultados e Discussão

A análise dos 30 genótipos de cevada, por meio do uso de 15 iniciadores, gerou um total de 160 marcadores RAPD, dos quais 141 (88,12%) foram polimórficos perfazendo uma média de 10,7 bandas por *primer*, revelando a existência de elevada variabilidade genética, passível de ser utilizada no melhoramento genético. A análise de agrupamento (Figura 1 - A1 e A2) mostrou uma tendência de agrupamento entre os genótipos mexicanos e estadunidenses, bem como de genótipos hexásticos, enquanto que os genótipos brasileiros e alemães apresentaram maior dissimilaridade genética. Esta variabilidade pode ser explicada pela ampla

base genética disponível no banco de germoplasma do Brasil. Esta alta variabilidade genética entre genótipos de cevada também já havia sido relatada em outras coleções, embora não tenham utilizado exatamente a mesma base genética do presente trabalho (Abdellaoui et al. 2007; Karim et al. 2009)

A dissimilaridade genética de acessos elite de cevada com base em características morfoagronômicas foi estimada com base na distância generalizada de Mahalanobis e as análises de agrupamento foram realizadas utilizando como critério o método do UPGMA e o método das coordenadas principais. As características que mais contribuíram para a variabilidade foram a área foliar da folha bandeira e o espigamento, enquanto o teor de proteína e o acamamento foram as que menos contribuíram. Foi verificada uma tendência de agrupamento dos materiais dísticos e hexásticos (Figura 1 - B1 e B2). A variabilidade genética de acessos de cevada com base em caracteres morfoagronômicos também foi observada por Manjunatha et al. (2007) e Shakhathreh et al. (2010).

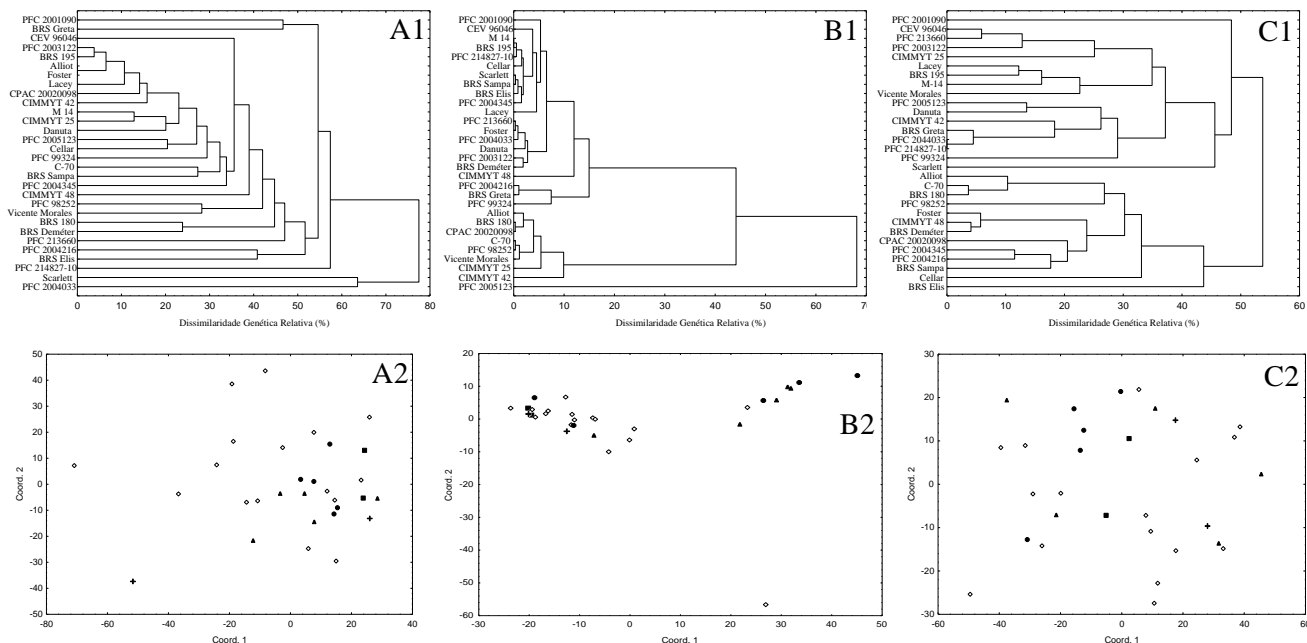


Figura 1 Análises de agrupamento e dispersão gráfica de 30 genótipos elite de cevada com base nas dissimilaridades genéticas relativas (%) calculadas com base em 160 marcadores RAPD (A1 e A2), 12 características agronômicas quantitativas (B1 e B2) e 10 características de qualidade malteira (C1 e C2)

Para as características malteiras, observou-se a existência de variabilidade genética entre os genótipos de cevada avaliados, mas não ocorreu tendência de agrupamento em relação à origem dos genótipos, nem em relação a sua característica número de fileiras de espiga (hexástica/dística) (Figura 1 - C1 e C2). O nitrogênio solúvel e  $\beta$ -glucanas foram caracteres qualitativos que mais contribuíram para a divergência genética, respectivamente, com 86,6%, e 12,5%, de contribuição. Quanto aos materiais genéticos utilizados em programas de melhoramento genético no Brasil, atenta-se que sistematicamente, com o redirecionamento e a remodelação do programa de cevada irrigada brasileira, em 2000, os diversos acessos de cevada utilizados nos cruzamentos estão amplamente distribuídos dentro do agrupamento. Estes resultados mostram claramente a existência de ampla divergência genética no grupo de genótipos estudados, o que é fruto direto do fato de terem sido analisados materiais genéticos de origens e de programas de melhoramento diversos (Amabile 2007).

Houve grande contribuição dos fatores genéticos na expressão dos caracteres. As elevadas magnitudes dos coeficientes de variação genética e das estimativas da herdabilidade ampla indicaram a existência de variabilidade genética apontando a possibilidade de obterem-se ganhos genéticos com a seleção para todos os caracteres (Tabela 1). As distâncias genéticas estimadas com base em marcadores moleculares, características quantitativas e qualitativas foram fracamente correlacionadas, evidenciando a complementaridade dos diferentes grupos de características no estudo da diversidade genética. A análise conjunta e complementar de diferentes grupos de características também foram de grande utilidade no estudo da diversidade genética de mandioca realizado por Vieira et al. (2011).

A utilização de índices de seleção e a análise de agrupamento dos genótipos permitiram a seleção de genótipos promissores e indicação de cruzamentos para maximizar efeitos heteróticos e complementaridade gênica no programa de melhoramento genético da cevada irrigada no Cerrado. Com base nestes resultados, podem ser indicados cruzamentos mais divergentes entre os genótipos selecionados com base em características quantitativas e de qualidade malteira: CPAC 20020098 x V. Morales, CPAC 20020098 x BRS 180, Foster x BRS 180, Alliot x BRS 180 e BRS 195 x BRS 180. Devido a utilização de critérios de corte restritivos, somente três genótipos, todos de seis fileiras de grãos, detiveram dígitos acima de zero entre eles o genótipo CPAC 20020098. Como resultado finalístico desse trabalho, foi selecionada a BRS Savanna (CPAC 20020098). Ela é um cruzamento entre V. Morales x IF200112 e é uma cevada de primavera, precoce, hexástica e de ampla adaptação para áreas irrigadas do Cerrado do Brasil Central. Ela apresenta estabilidade de produção e da qualidade industrial e possui elevado rendimento de grãos e resistência ao acamamento. É recomendada para o cultivo para as unidades federativas de GO, MG e DF.

Tabela 1 Estimativas da herdabilidade ao nível de média ( $h_a^2$ ), dos coeficientes de variação genético (CVg) e ambiental (CVe), da relação CVr e da contribuição relativa para a diversidade genética (CRDG) avaliadas em trinta genótipos elite de cevada

<b>Parâmetros</b>	<b>DNR</b>	<b>DFBR</b>	<b>CESP</b>	<b>NGESP</b>	<b>AFB</b>	<b>ESP</b>
$h_a^2$ (%)	96,19	96,71	94,98	99,12	99,91	99,41
CVg	20,37	119,42	14,95	43,09	143,94	11,41
CVe	8,11	44,08	6,87	8,13	8,88	2,14
CVr	2,51	2,71	2,17	5,30	16,21	5,33
CRDG <sup>(1)</sup> (%)	2,164	1,976	2,059	9,741	65,928	11,155
<b>Parâmetros</b>	<b>REND</b>	<b>PMS</b>	<b>CLASS</b>	<b>ALT</b>	<b>PROT</b>	<b>ACAM</b>
$h_a^2$ (%)	96,72	97,32	96,67	92,43	73,84	53,61
CVg	15,42	9,58	13,57	9,56	4,97	92,83
CVe	5,68	3,18	5,04	5,48	5,91	172,71
CVr	2,72	3,02	2,69	1,75	0,84	0,54

CRDG<sup>(1)</sup> (%) 1,892 2,198 1,532 1,136 0,1611 0,058

---

DNR: Distância do primeiro nó à ráquis (cm); DFBR: distância da folha bandeira à ráquis (cm); CESP: comprimento da espiga (cm); NGESP: número de grãos por espiga; AFB: área da folha bandeira (cm<sup>2</sup>); ESP: espigamento (dias); REND rendimento estimado de grãos (kg.ha<sup>-1</sup>), PMS: peso de mil sementes (g); CLASS: classificação comercial de primeira (%); ALT: altura de plantas (cm); PROT: teor de proteína total (%) e ACAM: grau de acamamento (dados transformados em arcsen  $x^{0,5} \cdot 100^{-1}$ , onde x = ao valor, em %, do acamamento).

<sup>(1)</sup> Contribuição Relativa para a Diversidade Genética, utilizando-se o método de Singh (1981).

#### Referências

Abdellaoui R et al. (2007) Morpho-physiological and molecular characterization of some Tunisian barley ecotypes. *Asian Journal of Plant Sciences* 6: 261-268.

- Amabile RF (2007) Cevada: um exemplo de cultura alternativa para o sistema irrigado do Cerrado. In: Faleiro GF and Sousa ES (eds.) **Pesquisa, desenvolvimento e inovação para o Cerrado**. Embrapa Cerrados, Planaltina, p. 69-72.
- Cruz CD (2001) **Programa genes: aplicativo computacional em genética e estatística**. Editora UFV, Viçosa, 642p.
- European Brewery Convention Analytica (1997) **Nurnberg**: verlang hans carl, getränke – fachverlag, Germany.
- Evans DE et al. (2010) Refining the prediction of potential malt fermentability by including an assessment of limit dextrinase thermostability and additional measures of malt modification, using two different methods for multivariate model development. **Journal of the Institute of Brewing** **116**:86-96.
- Faleiro FG (2007) **Marcadores genético-moleculares aplicados aos programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Embrapa Cerrados, Planaltina, 102p.
- Karim K, Rawda A and Hatem C (2009) Genetic diversity in barley genetic diversity in local Tunisian barley based on RAPD and SSR analysis. **Biological Diversity and Conservation** **2/1**: 27-35.
- Manjunatha T et al. (2007) Genetic diversity in barley (*Hordeum vulgare* L. ssp. *vulgare*) landraces from Uttaranchal Himalaya of India. **Genetic Resources and Crop Evolution** **54**:55-65.
- Rohlf FJ (2000) **NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.1**. New York, Exeter Software, 98p.
- Shakhatreh Y et al. (2010) Phenotypic diversity in wild barley (*Hordeum vulgare* L. ssp. *spontaneum* (C. Koch) Thell.) accessions collected in Jordan. **Genetic Resources and Crop Evolution** **57**:131-146.
- Singh D (1981) The relative importance of characters affecting genetic diversity. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding** **41**: 237-245.
- Todorovska E, Trifonova A and Atanassov A (2003) Genetic diversity among elite Bulgarian barley varieties evaluated by RFLP and RAPD markers. **Euphytica** **129**: 325-336.
- Vieira EA et al. (2011) Characterization of sweet cassava accessions based on molecular, quantitative and qualitative data. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** **11**: 232-240.