



UEPB

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

EVELINE DE SOUSA ARAÚJO

**VARIABILIDADE GENÉTICA EM GERGELIM POR MEIO DE
MARCADORES MOLECULARES E MORFOAGRONÔMICOS**

CAMPINA GRANDE – PB

2016

EVELINE DE SOUSA ARAÚJO

**VARIABILIDADE GENÉTICA EM GERGELIM POR MEIO DE
MARCADORES MOLECULARES E MORFOAGRONÔMICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba/ Embrapa Algodão, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias/ Área de Concentração: Biotecnologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Liziane Maria de Lima

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Roseane Cavalcanti dos Santos

CAMPINA GRANDE – PB

2016

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

A659v Araújo, Eveline de Sousa.
Variabilidade genética em gergelim por meio de marcadores moleculares e morfoagronômicos [manuscrito] / Eveline de Sousa Araújo. - 2016.
57 p. : il. color.

Digitado.
Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Estadual da Paraíba, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, 2016.
"Orientação: Profa. Dra. Liziane Maria de Lima, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa".
"Co-Orientação: Profa. Dra. Roseane Cavalcanti dos Santos"

1. Sesamum indicum L. 2. Gergelim. 3. Diversidade genética. 4. Genética agrícola. I. Título.

21. ed. CDD 631.523 3

VARIABILIDADE GENÉTICA EM GERGELIM POR MEIO DE MARCADORES MOLECULARES E MORFOAGRONÔMICOS

EVELINE DE SOUSA ARAÚJO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba/ Embrapa Algodão, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias/ Área de Concentração: Biotecnologia.

Aprovada em 07 de Março de 2016

Banca Examinadora:



Prof. Francisco José Correia Farias (D. Sc., Agronomia) – Embrapa Algodão



Prof.ª. Dr.ª. Morganna Pollyne Nóbrega Pinheiro (D. Sc., Biotecnologia) – Faculdade Maurício de Nassau



Prof.ª. Dr.ª. Roseane Cavalcanti dos Santos (D. Sc., Biologia Molecular) – Embrapa Algodão
Co-orientadora



Prof.ª. Dr.ª. Liziane Maria de Lima (D. Sc., Biologia Molecular) – Embrapa Algodão
Orientadora

Aquele, porém, que se gloria, glorie-se no SENHOR.

Dedico!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois nada sou sem a sua presença em minha vida que segurou-me para suportar tantas lutas, me capacitando com sabedoria e orientando-me durante a execução deste trabalho.

Aos meus amados pais Hélio Araújo de Oliveira e Maria de Sousa Araújo e a minha querida irmã Silvany que me amam de forma incondicional, e sempre me apoiaram em todos os momentos difíceis ao longo desses dois anos e nunca deixaram de acreditar em mim.

As pesquisadoras da Embrapa Algodão D.Sc. Liziane Maria de Lima, a D.Sc. Roseane Cavalcanti dos Santos e a D.Sc. Nair Helena Castro Arriel pelo grande apoio durante a execução deste estudo e por terem feito parte do processo de construção não apenas deste trabalho mais acompanhando-me desde o período da graduação. Agradeço a confiança depositada em meu trabalho por terem acreditado em meu potencial e capacidade, isso me fez chegar aqui.

À Universidade Estadual da Paraíba e a todos os professores que compõem o corpo docente do Mestrado em Ciências Agrárias, seus ensinamentos me proporcionaram uma ótima formação acadêmica.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pelo fornecimento de bolsa.

Aos meus amigos da turma do Mestrado de Ciências Agrárias, pela maravilhosa companhia ao longo desses dois anos, vocês estarão na minha memória para sempre. Pelas boas risadas, companheirismo nos momentos mais complicados, pelos momentos felizes e agradáveis que vocês me proporcionaram.

A todos os meus companheiros e grandes amigos da Embrapa Algodão funcionários e estagiários, não tenho como citar todos, pois foram muitos os que me ajudaram, só tenho a agradecer pelas instruções, conselhos, pelo aprendizado obtido e os bons momentos que compartilhamos todos foram muito importantes e essenciais durante este tempo.

A todos vocês minha eterna gratidão!

SUMÁRIO

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.INTRODUÇÃO | 10 |
| 1.1.Objetivo geral | 12 |
| 1.2.Objetivos específicos..... | 12 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 13 |
| 2.1. Sesamocultura | 13 |
| 2.2. Importância econômica do gergelim | 14 |
| 2.3. Divergência genética | 16 |
| 2.4. Características morfoagronômicas..... | 17 |
| 2.5. Marcadores moleculares | 18 |
| 2.5.1. Marcadores microssatélites | 19 |
| 2.5.2. Análise multivariada na caracterização da divergência genética | 20 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | 22 |
| 3.1. Recursos genéticos de gergelim e condução do experimento | 22 |
| 3.2. Extração de DNA e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) | 26 |
| 3.3. Análise dos dados | 28 |
| 3.3.1. Análise conjunta dos marcadores | 30 |
| 4.RESULTADOS E DISCUSSÃO | 31 |
| 5. CONCLUSÕES | 47 |
| 6. REFERÊNCIAS | 48 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1. Genótipos de gergelim oriundos do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Algodão..... | 24 |
| Tabela 2. Relação dos iniciadores SSRs com respectivos nomes e sequências de bases nitrogenadas (WEI et al., 2011) | 27 |
| Tabela 3. Caracterização e classificação dos genótipos de gergelim a partir dos descritores morfológicos avaliados..... | 32 |
| Tabela 4. Resumo das análises de variância obtidas para os seis caracteres agronômicos avaliados em 36 genótipos de gergelim em Patos-PB, 2015..... | 38 |
| Tabela 5. Informações dos iniciadores SSR: heterozigosidade esperada (H_e), observada (H_o), coeficiente de endogamia (F) e o conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) em gergelim | 40 |
| Tabela 6. Agrupamento dos acessos de gergelim pelo método de otimização de Tocher, a partir dos dados morfoagronômicos e moleculares..... | 42 |
| Tabela 7. Correlação entre pares matrizes de dissimilaridade com dados qualitativos e quantitativos..... | 45 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. (A) Implantação do experimento de gergelim no Campo Experimental da Embrapa Algodão, na cidade de Patos-PB, (março a junho de 2015); (B) Início da floração aos 38 dias, aproximadamente após a germinação | 24 |
| Figura 2. Diversidade nas cores das sementes de gergelim avaliadas | 37 |
| Figura 3. Padrão de bandas obtidos com os iniciadores ZM-22 (A); ZM-34 (B) e ZM-45 (C) M - marcador 1Kb (<i>Ludwig Biotec</i>) | 41 |
| Figura 4. Dendrograma obtido pelo método de agrupamento hierárquico UPGMA | 43 |

RESUMO

ARAÚJO, Eveline de Sousa. Universidade Estadual da Paraíba / Embrapa Algodão, Fevereiro, 2016. **Variabilidade genética em gergelim por meio de marcadores moleculares e morfoagronômicos**. Orientadora: Liziane Maria de Lima; Coorientadora: Roseane Cavalcanti dos Santos.

O conhecimento da variabilidade genética do gergelim é primordial para o direcionamento dos programas de melhoramento. Para avançar nesse segmento, é indispensável que se tenha o máximo de informações sobre as principais características pertencentes à cultura. Os parâmetros morfológicos, agronômicos e moleculares são meios de estudar a diversidade genética, com intuito de identificar fontes de germoplasmas promissoras. Objetivou-se com este trabalho avaliar a variabilidade genética entre genótipos de gergelim por meio de marcadores morfoagronômicos e moleculares. Os dados obtidos foram submetidos a métodos de análises estatísticas, optando-se pela análise de agrupamento, na qual a mensuração é efetiva e possibilita o agrupamento dos genótipos em classes, de acordo com a semelhança. Foram analisados 36 genótipos de gergelim da espécie *Sesamum indicum* L., pertencentes ao BAG da Embrapa Algodão. O delineamento experimental adotado foi de blocos casualizados, com parcelas experimentais constituídas de três fileiras de 3 metros de comprimento, com espaçamento de 1 m x 0,20 m. Dez oligonucleotídeos específicos para gergelim foram usados para as análises moleculares. A ANAVA foi adotada para avaliar as variáveis quantitativas e o método multicategórico para avaliar os dados qualitativos. Os métodos de agrupamento Tocher e UPGMA foram utilizados para avaliação dos acessos. Os marcadores agronômicos e moleculares foram os mais contributivos para estudo da diversidade genética e permitiu identificar características de interesse como precocidade nos genótipos BAG 591 e BAG 649 e grau de similaridade, reunindo os mais similares nos grupos 2, 3 e 4. O método UPGMA apresentou melhor resultado para a análise de agrupamento. Os resultados gerados darão suporte para o programa de melhoramento genético gerar novas cultivares de gergelim com características de interesse agrônômico para atender os diversos segmentos.

Palavras-chave: *Sesamum indicum* L.; Banco de germoplasma; Diversidade genética; UPGMA.

ABSTRACT

Knowledge of the genetic variability of sesame is primordial to forward of improvement programs. To advance in this segment is crucial to have as much information on the main characteristics belonging to the sesame crop. Morphological, agronomic and molecular particulars are ways to study the genetic diversity, in order to identify sources of promising germplasm. The objective of this study was to evaluate the genetic variability among sesame genotypes using morphological and molecular markers. Data were subjected to methods of statistical analysis, which was chosen by cluster analysis, where the measure is effective and enables grouping of genotypes in classes, measured by the similarity. Were analyzed 36 genotypes of *Sesamum indicum* L. belonging to germplasm bank of EMBRAPA ALGODÃO. The experimental design was a randomized block, with experimental plots consist of three rows of three meters in length, with spacing of 1m x 0.20m. Ten oligonucleotides used was specific to sesame. ANOVA was adopted to evaluate quantitative variables, and the multicategorical method for qualitative data. Tocher and UPGMA methods for evaluation of materials were used. It was observed that UPGMA analysis showed better results for the cluster analysis. The agronomic and molecular markers were main contributors to the study of diversity among the accessions, enabling identifying characteristic of interest as precocity, and degree of similarity. It was observed the results to identify genetic variability of accesses investigated the germplasm bank sesame which can be applied in the breeding program.

Keywords: *Sesamum indicum* L.; Germplasm bank; Genetical diversity; UPGMA.

SUMÁRIO

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.INTRODUÇÃO | 10 |
| 1.2. Objetivo geral | 12 |
| 1.2. Objetivos específicos..... | 12 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 13 |
| 2.1. Sesamocultura | 13 |
| 2.2. Importância econômica do gergelim | 14 |
| 2.3. Divergência genética | 16 |
| 2.4. Características morfoagronômicas..... | 17 |
| 2.5. Marcadores moleculares | 18 |
| 2.5.1. Marcadores microssatélites | 19 |
| 2.5.2. Análise multivariada na caracterização da divergência genética | 20 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | 22 |
| 3.1. Recursos genéticos de gergelim e condução do experimento | 22 |
| 3.2. Extração de DNA e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) | 26 |
| 3.3. Análise dos dados | 28 |
| 3.3.1. Análise conjunta dos marcadores | 30 |
| 4.RESULTADOS E DISCUSSÃO | 31 |
| 5. CONCLUSÕES | 47 |
| 6. REFERÊNCIAS | 48 |

1. INTRODUÇÃO

O gergelim (*Sesamum indicum* L.) é uma espécie oleaginosa de uso antigo. Suas sementes contêm alta concentração de óleo e proteínas com elevado valor nutricional. Suas plantas apresentam bom desempenho agrônômico. Contudo, estresses bióticos e/ou abióticos podem acarretar danos que refletem em menores rendimentos durante a colheita. Para superar tais barreiras a exploração eficiente do germoplasma associado à informação genética são necessários para fortalecer os programas de melhoramento vegetal e a caracterização da espécie para associações entre genótipos e fenótipos confiáveis (WANG et al., 2014).

Com elevado potencial de cultivo devido suas características de adaptação a diferentes condições edafoclimáticas e diante da pluralidade e diferentes aplicabilidades dos produtos derivados de suas sementes, seu potencial econômico é promissor, almejando-se um mercado crescente para exploração e aplicação de seus grãos e óleo, muito usados nas indústrias oleoquímica, alimentar, farmacêutica, cosmética e de biocombustíveis. Seu óleo apresenta grandes quantidades de substâncias antioxidantes que auxiliam na estabilidade e manutenção de suas propriedades químicas impedindo uma rápida degradação. Neste contexto, estudos de caracterização da diversidade genética disponível podem promover a obtenção de genótipos desejáveis por suas características, auxiliando no andamento de pesquisas em todo mundo (POMPELLI et al., 2011). A diversidade genética propaga a alternância entre as frequências alélicas das populações, sendo essa a base para o melhoramento genético das espécies, a partir do seu conhecimento, é possível estimar as probabilidades de identidade de um determinado acesso com qualquer outro, com base na análise de DNA (PRIORI et al., 2013).

Entre as técnicas existentes para avaliação e caracterização da variabilidade utilizam-se marcadores morfoagronômicos, bem como bioquímicos e moleculares. Os estudos sobre a diversidade genética de gergelim e a divergência podem ser baseados no uso combinado de várias técnicas para a caracterização do germoplasma, uma vez que, possibilitam analisar comparativamente os fenótipos de experimentos de campo com os fenótipos e genótipos moleculares dos estudos laboratoriais (PHAM et al., 2011).

A caracterização morfoagronômica para diferenciar genótipos contidos em um germoplasma é de grande importância, em função de seu poder discriminante entre os acessos. A correlação de características de interesse permite a estimativa quantitativa de um caráter em relação a outro através da avaliação do fenótipo da espécie estudada, esse conhecimento é fundamental durante as distintas etapas dos programas de melhoramento de plantas. Nos estudos atuais sobre diversidade genética utilizam-se a junção das técnicas de análises morfoagronômicas e moleculares proporcionando determinada eficácia, uma vez que a grande maioria das características de interesse é de importância econômica e resulta da ação conjunta de vários genes, denominada herança poligênica, sendo, portanto, de herança complexa ou de difícil mensuração (BHERING et al., 2011; AKBAR et al., 2011; FERREIRA et al., 2012).

Os marcadores moleculares são ferramentas importantes para genotipagem em estudos genéticos e empregados na caracterização das coleções de germoplasma, na resolução da distância genética entre os acessos e na identificação e seleção de genótipos de interesse aos programas de melhoramento genético. A diferença dentro e entre os acessos pode ser avaliada por métodos específicos ou combinações de métodos, que incluem variáveis quantitativas e qualitativas. Os marcadores moleculares microsatélites ou SSR (*Single Sequence Repeats*) têm sido usados como uma eficiente ferramenta para a caracterização de acessos em bancos de germoplasma (SANTOS et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2012).

A análise da diversidade genética por meio de técnicas morfoagronômicas e moleculares fornece informações que podem ser utilizadas em programas de melhoramento genético para obtenção de cultivares com características desejadas.

1.1. Objetivo geral

Caracterizar a variabilidade genética entre acessos de gergelim oriundos do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Algodão visando à identificação de genitores promissores para o Programa de Melhoramento genético da espécie.

1.2. Objetivos específicos

- Avaliar acessos do BAG de Gergelim com base em descritores morfológicos e agronômicos;
- Analisar acessos do BAG de Gergelim por meio de ferramentas moleculares utilizando marcadores microssatélites para a mensuração da diversidade genética.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Sesamocultura

O gergelim (*Sesamum indicum* L.) é considerado a oleaginosa mais antiga em relação à sua utilização (BELTRÃO et al., 2001). Ao longo dos anos, vários estudos foram realizados envolvendo esta espécie, uma vez que sua exploração agrícola pode ser utilizada, tanto em sistemas de cultivo convencional, como produção agroecológica, cultivo em sucessão, rotação e consorciação com outras culturas, além de ser uma planta que se desenvolve em diferentes solos, regiões e condições de ambientes (LUCENA et al., 2013).

Inserido na família Pedaliacea, é uma espécie autógama, exibem diversas variedades e linhagens, diferenciando-se por características como hábito de crescimento, ramificações, forma das folhas, flores, cápsulas, deiscência dos frutos, forma e cor das sementes, teor de óleo e proteínas encontradas em suas sementes (WEISS, 1983; MAZZANI, 1983; BEDIGIAN et al., 1986).

O gergelim é considerado predominantemente autógamo, porém foi observado diferentes taxas de alogamia que variaram com a região, cultivares, condições climáticas e populações de insetos. Sugerindo que a probabilidade para a polinização cruzada natural é aumentada nas manhãs de dias nublados, frios e chuvosos, quando a liberação do pólen é retardada até uma a duas horas depois da abertura da flor (ARRIEL et al., 2001).

Sua propagação ocorre por meio das sementes, cultivadas em regiões tropicais e subtropicais por tolerar períodos de seca. A planta pode possuir porte arbustivo, podendo medir cerca de 50 cm a 3 m de altura, caule ereto, suas folhas possuem formas variadas e crescem alternadamente ou oposta no caule, as flores apresentam-se em forma de sino, que são completas e axilares, o cálice tem cinco sépalas fundidas e possui uma pétala que serve como plataforma de pouso para os insetos visitantes. As cápsulas podem apresentar presença ou ausência de pilosidade, seu tamanho varia de 2 a 8 cm de comprimento e diâmetro de 0,5 a 2 cm, caracterizam-se por formas

diferenciadas entre retangular ampla ou estreita e quadrada, localizam-se nas axilas das folhas podendo haver de um a três frutos; a abertura das cápsulas pode ser deiscente, semi-indeiscente e indeiscente, a abertura do fruto tem início no ápice, em direção à base. As sementes são pequenas, ovaladas e ligeiramente achatadas, com coloração que variam entre branco a preto, passando por marrom, verde-oliva e amarelo (MOMOH et al., 2012; BELTRÃO et al., 2013).

A sesamocultura destaca-se pelo fácil cultivo e rusticidade em relação às demais culturas, está respaldada na existência de um crescente mercado nacional com potencial na produção de produtos diversificados a exemplo de cosméticos, medicamentos, entre outros. Tecnologias têm sido estudadas e desenvolvidas para o cultivo dessa oleaginosa, porém, ainda se fazem necessárias maiores informações sobre o desempenho da cultura, diante do seu potencial de exploração econômica (CRUZ et al., 2013; SOUZA et al., 2014).

Diante da aplicação do gergelim em diversos produtos, esta cultura chama a atenção dos agricultores que procuram opções para diversificação da produção agrícola por se constituir em uma alternativa de cultivo rentável tradicionalmente explorado em pequenas e médias propriedades. Além do fácil manejo e adaptação aos diferentes tipos de solo e clima é uma estratégia para o emprego de mão de obra familiar e auxílio no acréscimo da renda (BELTRÃO, 2001).

2.2. Importância econômica do gergelim

Nos últimos anos, os agricultores despertaram maior interesse pelo cultivo de gergelim, por ser um alimento de alto valor nutricional e proporcionar a diversificação da produção agrícola. Sua semente é o material utilizado para implantação da cultura, como também é matéria prima para comercialização de grãos e para a fabricação de subprodutos (LUCENA et al., 2013).

Segundo Queiroga et al. (2011), a sesamocultura vem adquirindo importância econômica em território brasileiro, notadamente em sistemas agrícolas familiares, uma vez que, em apenas três meses após o plantio, o gergelim está no ponto de maturação, posteriormente pronto para a comercialização para grandes empresas. Segundo estudos de mercado, o Brasil é considerado um país importador de gergelim, onde mais de 90% da produção tem como destino o consumo alimentício. Existe uma perspectiva de

expansão para seus produtos com o aumento crescente da procura por produtos funcionais e a adoção de novos hábitos alimentares saudáveis (NOBRE et al., 2013).

As sementes de gergelim são ricas em numerosos componentes com efeitos benéficos a saúde humana, incluindo vitaminas do complexo B e E, consideradas importantes antioxidantes; além de ferro, cálcio, fósforo, magnésio, potássio, sódio, zinco e selênio (PATHAK et al., 2014; WHFOODS, 2015). O óleo de gergelim oferece altos teores de ácidos graxos polinsaturados, a estabilidade oxidativa do óleo é elevada, em virtude da presença de lignanas, sesamol, sesamina e sesamolina considerados potentes antioxidantes. Essas propriedades colaboram para o bom funcionamento do organismo (HWANG, 2005).

Estudos mostraram a eficácia do consumo de gergelim, entre os benefícios gerados a saúde humana, relatou-se sobre sua atividade antienvhecimento atribuído ao efeito conjunto entre os tocoferóis e lignanas, além da redução de colesterol no sangue, em virtude da aceleração da decomposição de álcool no fígado, atividade anti-hipertensiva e anticarcinogênica (NAMIKI, 2007), sendo seu consumo recomendado por médicos e nutricionistas. Além de serem usados em cosméticos devidos seus efeitos antimelanogênico que protege a pele (SRISAYAM et al., 2014; STOCCO e NICHELE, 2015).

Diante dos benefícios gerados através do consumo in natura ou da utilização dos produtos desenvolvidos a partir do gergelim, esta cultura tornou-se alvo de pesquisas. Desde 1986, a Embrapa Algodão conduz pesquisas para desenvolver cultivares mais produtivas e resistentes, além do melhor aproveitamento das suas propriedades. Entre as cultivares lançadas estão CNPA G2, G3, G4, SEDA e a cultivar BRS Anahí lançada recentemente (ARRIEL et al., 2006; ARRIEL et al., 2015).

2.3. Divergência genética

A divergência genética tem sido amplamente investigada visando classificar os genótipos em grupos, com o objetivo de facilitar a escolha de parentais (MELO et al., 2015) de interesse aos programas de melhoramento, uma vez que, quando cruzados, possibilitam maior efeito heterótico, onde os descendentes apresentam melhor desempenho biológico que a média dos pais. Além disso, a divergência genética possibilita a identificação de genitores geneticamente complementares, que, ao serem

intercruzados, poderão originar populações com maior variabilidade e com maior probabilidade de recuperação de genótipos superiores nas gerações segregantes (CASTRO et al., 2011; CRUZ et al., 2012). Sendo assim, é de grande importância para estudos relacionados à evolução das espécies, fornecendo informações a respeito dos recursos disponíveis, bem como para auxiliar na localização e no intercâmbio desses recursos (CASTRO et al., 2011).

A coleta e análise de dados sobre a diversidade genética do germoplasma de gergelim geram informações importantes para a conservação e melhoria de seu uso. Estudar a diversidade desta cultura além de proporcionar o conhecimento do germoplasma, possibilita encontrar novos genótipos através da coleta de materiais exóticos que possuem características peculiares importantes para o melhoramento da espécie, como resistência a fatores bióticos e abióticos, podendo ser usada para desenvolver variedades com características importantes para o mercado (WOLDESENBET et al., 2015).

Borém e Miranda (2009) demonstraram que alguns cruzamentos tendem a causar desorganização na estrutura gênica do germoplasma, provocando como consequência redução no comportamento geral da população originada, com isto, demonstra-se a importância de estudos prévios para análise onde os cruzamentos dos genomas envolvidos possam complementar-se.

A caracterização de gergelim tem sido realizada direcionando-se para a classificação dos acessos, com o objetivo de facilitar a escolha de parentais. A averiguação entre a eficácia da associação de diferentes medidas utilizada para estimar resultados é de grande importância, pois através dessas medidas pode-se obter um estudo mais completo da divergência genética existente na espécie (MELO et al., 2015).

Sendo assim, a exploração de técnicas morfoagronômicas e moleculares auxilia no estudo da diversidade genética possibilitando avaliar as relações filogenéticas e as estruturas das populações propostas. As informações alcançadas podem ser usadas para o desenvolvimento de uma futura estratégia de concepção para auxiliar o melhoramento de espécies vegetais possibilitando aumentar o rendimento e a qualidade do gergelim (PARQUE et al., 2014).

2.4. Características morfoagronômicas

Cruz e Regazzi (1994) mostram a importância da caracterização morfoagronômica para identificação do germoplasma, devido ao seu poder discriminante entre os acessos e da sua estabilidade de manifestação. As variáveis que mais contribuem para divergência dos acessos devem ter baixas correlações entre si, de forma que sua permanência no estudo seja responsável por um tipo de informação exclusiva e a ação conjunta das mesmas seja complementar para a descrição dos genótipos analisados (SINGH e UNREA, 1995).

A caracterização morfoagronômica baseia-se na avaliação de caracteres que sejam de fácil detecção e mensuração e os dados obtidos através dessa análise são utilizados para delinear o germoplasma em várias espécies que possuem importância econômica. A descoberta de características de interesse torna-se essencial aos programas de melhoramento, uma vez que, permite a avaliação quantitativa e qualitativa de um caráter em relação a outro (FERREIRA et al., 2012).

As variedades de gergelim diferenciam-se por vários atributos como: altura de planta, comprimento de cápsula, ciclo (entre 70 a 170 dias), tipo de ramificação, coloração das sementes, entre outros. As variedades produtoras de sementes de cor branca ou creme são as de maior valor comercial, ao passo que as sementes pretas caracterizam-se por serem de demanda restrita, mas em ascensão no mercado consumidor (PHAM et al., 2011).

A indeiscência dos frutos é uma característica muito almejada para o melhoramento do gergelim, pois está entre os principais fatores que influenciam no aumento da produtividade, uma vez que, mesmo após o período de amadurecimento dos frutos as sementes permanecem aderidas as cápsulas, o que contribuiria também para uma possível colheita mecanizada (PINTO e ARRIEL, 2014).

A despeito do simples monitoramento, dependendo da cultura e do desenvolvimento da planta a obtenção de dados morfológicos e agronômicos é um procedimento demorado e o ambiente frequentemente influencia na expressão das características. Ainda sim, se a magnitude de variação induzida pelo ambiente é ampla comparada com a variação genética, a estimativa de diversidade baseada em dados morfoagronômicos pode representar uma ideia errônea da diversidade genética entre indivíduos (ARRIEL, 2004).

2.5. Marcadores moleculares

A seleção genética fundamentada em dados fenotípicos, estimados em campo, constitui o fundamento do melhoramento genético convencional que busca definir cruzamentos a serem realizados, como a identificação dos indivíduos superiores a serem usados comercialmente. Todavia, a introdução de ferramentas biotecnológicas para auxiliar os programas de melhoramento genético possui grande potencial, pois promovem rápidos avanços na geração de novas cultivares (ALEKCEVETCH et al., 2013).

A vantagem da utilização de métodos moleculares é a obtenção direta de informações das sequências de DNA durante a seleção entre indivíduos ou populações, vislumbrando encontrar polimorfismos entre essas sequências e a distinção entre indivíduos homocigotos e heterocigotos por meio de marcadores co-dominantes. Sendo assim, um recurso dinâmico na identificação de indivíduos e na análise da diversidade genética. A obtenção de marcas moleculares agregadas a características agrônômicas colaboram com a possibilidade de analisar intrinsecamente o genótipo de um indivíduo sem a necessidade da ocorrência da expressão fenotípica (SANT'ANA et al., 2012).

São utilizados diversos marcadores moleculares para estudo da diversidade genética, porém os marcadores microssatélites são os mais utilizados em programas de melhoramento em gergelim. Os marcadores SSR (*Simple Sequência Repetitiva*) são amplamente utilizados para a genotipagem de alto rendimento e construção de mapas, diante das suas vantagens, entre elas, alta reprodutibilidade, co-dominância, abundância relativa e cobertura completa do genoma, essas características os tornou uma ferramenta útil para a detecção de diversidade genética, mapeamento de ligação genética e análise da evolução (WEI et al., 2011).

O gergelim apesar de ser descrito como planta autógama (ARRIEL et al., 2001) apresenta alta manifestação heterótica em combinações híbridas, tanto para os caracteres de produção quanto para caracteres vegetativos. Nesse sentido, o conhecimento da diversidade, baseado em informações mais precisas, como as geradas pelos marcadores moleculares SSR identificam diferenças alélicas e têm sido utilizados em muitos organismos, porque são abundantes, altamente polimórficos e a técnica possibilita maior repetição dos resultados (LUO et al., 2015).

Sendo assim, os marcadores moleculares exercem um papel importante, uma vez que, podem ser amplamente empregados para mapear genes importantes, auxiliando

o melhoramento de diversas culturas. Em gergelim, a seleção assistida por marcadores moleculares ainda requer maiores estudos para auxiliar no desenvolvimento de marcadores específicos que possam ser usados para caracterizar acessos, minimizando o período gasto para avaliação. Neste sentido uma abordagem rápida e eficaz se faz necessário para o desenvolvimento de marcadores moleculares para esta cultura (WEI et al., 2011).

A literatura dispõe de trabalhos relacionados a variabilidade genética entre genótipos de gergelim analisados por meio de descritores morfoagronômicos e moleculares, visando avaliar a variabilidade existente entre eles. As informações obtidas têm auxiliado o melhoramento genético do gergelim, contribuindo para o avanço do conhecimento científico da espécie (ROCHA et al., 2012; ZHANG et al., 2013; PINTO e ARRIEL, 2014; SILVA et al., 2014). Entretanto, se faz necessário mais estudos nesta área visando aumentar a quantidade de informações a respeito da variabilidade existente na cultura do gergelim.

2.5.1. Marcadores microssatélites

O uso dos marcadores moleculares microssatélites ou SSR tem se mostrado eficaz para identificação de cultivares, análise genealógica e de distância genética entre os organismos. A informação da diversidade genética entre grupos de genitores por meio da utilização dessas técnicas vem permitindo estabelecer diferenças entre acessos em diversas culturas, facilitando a seleção de genitores a serem empregados em programas de melhoramento (COUTINHO et al., 2014; VILLELA et al., 2014).

Segundo Wei et al. (2011) o conhecimento da estrutura e variação genética é importante para a dinâmica populacional e a compreensão de processos evolutivos. Estudos relacionados ao transcriptoma e ao genoma do gergelim ainda são incipientes. O sequenciamento dessa cultura é importante para gerar um conjunto de dados e sequências para o desenvolvimento de diversos marcadores moleculares, a síntese de marcadores microssatélites é uma opção para investigar polimorfismos de populações.

Marcadores microssatélites são amplamente utilizados para a genotipagem de alto rendimento e construção de mapas devido à elevada abundância, distribuição aleatória no genoma e elevado conteúdo de informação de polimorfismo (PIC). Além da

reprodutibilidade, co-dominância, abundância relativa e cobertura completa do genoma, são as ferramentas mais úteis para a detecção de diversidade genética, mapeamento de ligação genética, mapeamento de associação e análise da evolução. Porém poucos EST-SSR foram desenvolvidos e utilizados para detectar a diversidade genética para germoplasma de sésamo (JIAO et al., 2012; Wei et al., 2014).

A identificação de locos microssatélites normalmente ocorre por duas abordagens: sequenciamento de cDNA ou via biblioteca genômica de DNA. Os microssatélites são constituídos de unidades repetitivas de nucleotídeos, encontrados em todos os genomas eucariotos e procariotos, uma das suas características é a alta reprodutibilidade da técnica. Entre as desvantagens do uso de SSRs destaca-se o alto custo inicial de investimento necessário para o desenvolvimento prévio dos marcadores e equipamentos sofisticados para sequenciamento automático, incluindo biblioteca genômica, seleção de clones, construção e teste dos iniciadores. Mesmo diante dos investimentos necessários os marcadores SSR são considerados ótima alternativa para estudos de diversidade em várias espécies (GUICHOUX et al., 2011).

2.5.2. Análise multivariada na caracterização da divergência genética

A divergência genética pode ser utilizada para direcionar estratégias de cruzamentos específicos, otimizando metodologias para a conservação de recursos genéticos. Laviola et al. (2011) afirma que a caracterização de um banco de germoplasma através de descritores quantitativos e qualitativos auxilia na incorporação de genótipos promissores para o programa de melhoramento.

A análise multivariada reduz o número de variáveis que explicam a variação total disponível promovendo a obtenção das distâncias entre os indivíduos que estão sendo confrontados possibilitando o estudo da variabilidade genética. Os métodos estatísticos de análise multivariada mais utilizados para divergência genética são: variáveis canônicas, quando se dispõe de experimentos com repetições; análise de componentes principais e coordenadas principais quando se trata de dados sem repetição. Além dos métodos de agrupamentos que são de simples interpretação (CRUZ e CARNEIRO, 2003; GIORGENON e MAURO, 2014).

A análise de agrupamento é uma das técnicas mais utilizadas para estudo de divergência genética, possui a finalidade de separar e reunir os objetos de estudo em

grupos, de forma que objetos dentro do mesmo grupo sejam tão semelhantes quanto possível, enquanto diferentes grupos sejam heterogêneos entre si. Os métodos hierárquicos permitem a constituição de uma árvore de ramos interconectados, denominados dendograma. No melhoramento vegetal o método mais empregado é o UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) tendo por base a ligação média não ponderada entre os grupos. Nas técnicas de otimização, o mais usual é o método de Tocher que é mais exclusivo para a formação de grupos distintos e que não são interligados, baseia-se no critério onde a média das medidas de distância dentro de cada grupo deve ser menor que as distâncias médias entre os grupos (CRUZ et al., 2012; PUIATTI et al., 2014).

Trabalhos que utilizam técnicas com análise multivariada, no estudo da diversidade genética, contribuem efetivamente na discriminação e indicação de prováveis genitores que possam ser utilizados em programas de melhoramento (ARRIEL et al., 2006).

O objetivo da caracterização do gergelim é acessar os genótipos com características desejáveis, permitindo além de um melhor conhecimento do germoplasma, planejamentos de cruzamentos, seguindo o principal foco que está na transferência de genes que expressem características favoráveis visando rendimento, proteção à planta, melhoria no manejo e adaptação às condições limitantes e ainda a ampliação da produção.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Recursos genéticos de gergelim e condução do experimento

Uma coleção composta de 36 acessos de gergelim da espécie *S. indicum* oriunda do BAG da Embrapa Algodão (Tabela 1) foi utilizada para este trabalho de pesquisa. As sementes foram semeadas no Campo Experimental da Embrapa Algodão, na cidade de Patos-PB (7°10'50"S, 37°18'55"W, 249 m), no período de março a junho de 2015 (Figura 1). No período de condução do experimento, a temperatura média registrada variou entre 34.3°C e 22.2°C e a umidade relativa do ar de 61%; a precipitação total foi de 214 mm (AESAs, 2015).

Antes da semeadura, o solo foi irrigado até a capacidade de campo, de modo a assegurar a germinação das sementes. O solo foi classificado como eutrófico, ou seja, possui significativa presença de minerais e é predominantemente pouco profundo e bem drenado, não hidromórfico permanecendo em condições naturais sem excesso de água ou umidade. Possui os tipos de horizonte A, textura arenosa com presença ou não de cascalho, estrutura fraca, pequena, blocos subangulares e pequena granular e baixíssimos teores de carbono orgânico, praticamente na mesma proporção (BURGOS et al., 2002).

A área foi previamente corrigida e fertilizada de acordo com a recomendação sugerida pelo Laboratório de Solos da Embrapa Algodão, com 90 kg.ha⁻¹ de fosfato monoamônico (MAP) e 20 kg.ha⁻¹ de nitrogênio. Após desbaste, aos 40 dias aproximadamente, foi aplicada cobertura de 90 kg.ha⁻¹ de ureia e 20 kg.ha⁻¹ de cloreto de potássio e aos 60 dias uma segunda cobertura com 90 kg.ha⁻¹ de ureia e 15 kg.ha⁻¹ de cloreto de potássio.

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados, com parcelas experimentais constituídas de três fileiras de 3 metros de comprimento, com espaçamento de 1 m x 0,20 m, deixando-se uma planta por cova após o desbaste. A linha central da parcela foi considerada a área útil, a partir da qual foram realizadas as avaliações para caracterização dos acessos. Aos quinze dias após a semeadura foi realizado o desbaste das plantas em excesso, em duas etapas: (i) quando as plantas estavam com 5 folhas (pré-desbaste); (ii) quando as plantas estavam com 15 cm de

altura (desbaste definitivo), deixando-se uma planta, num espaçamento de 20 cm entre plantas dentro da fileira. Para controle de plantas daninhas, foram efetuadas capinas manuais à enxada. O manejo e os tratos culturas foram realizados de acordo com o Sistema de Produção da Cultura, não houve necessidade de manejo fitossanitário.

A colheita (corte amarração e formação das medas), a batedura, peneiramento e ventilação, foram realizados manualmente. As avaliações foram feitas, aproximadamente aos 90 dias após a germinação, em cinco plantas da fileira central.

Tabela 1. Genótipos de gergelim oriundos do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Algodão.

| N° | Identificação | Origem | N° | Identificação | Origem |
|-----------|----------------------|---------------|-----------|----------------------|----------------|
| 1 | BAG 172 | BRA 22577 | 19 | BAG 235 | BRA 26506 |
| 2 | BAG 586 | BRA 30422 | 20 | BAG 511 | BRA 28983 |
| 3 | BAG 591 | BRA 30457 | 21 | G 4 | Venezuela 3230 |
| 4 | BAG 615 | BRA 31135 | 22 | BAG 232 | BRA 26476 |
| 5 | BAG 616 | BRA 31160 | 23 | BRA 2135 | BRA 2135 |
| 6 | BAG 612 | BRA 311277 | 24 | G 6 | México 3232 |
| 7 | BAG 648 | BRA 31623 | 25 | BAG 536 | BRA 29360 |
| 8 | BAG 200 | BRA 26093 | 26 | G 5 | Paquistão 4231 |
| 9 | BAG 619 | BRA 31194 | 27 | BAG 673 | CNPA G2.3 |
| 10 | BAG 221 | BRA 26344 | 28 | BAG 666 | BRA 31810 |
| 11 | BAG 177 | BRA 25704 | 29 | BAG 608 | BRA 30162 |
| 12 | BAG 257 | BRA 26701 | 30 | BAG 141 | BRA 25101 |
| 13 | BAG 579 | BRA 30317 | 31 | BAG 663 | BRA 31780 |
| 14 | BAG 698 | CNPA G2.1 | 32 | G 3 | Nicarágua 7209 |
| 15 | BRA 649 | CNPA G2.2 | 33 | BAG 688 | BRA 32140 |
| 16 | BAG 664 | BRA 31798 | 34 | BAG 606 | BRA 30759 |
| 17 | BAG 668 | BRA 31844 | 35 | BAG 687 | BRA 31984 |
| 18 | BAG 587 | BRA 30431 | 36 | BRA 675 | BRA 31925 |



Figura 1. (A) Implantação do experimento de gergelim no Campo Experimental da Embrapa Algodão, na cidade de Patos-PB, (março a junho de 2015); (B) Início da floração aos 38 dias, aproximadamente após a germinação.

A fenotipagem dos 36 acessos foi realizada através de descritores agrupados em características morfológicas e agronômicas. Ambos auxiliam na distinguibilidade entre acessos. As variáveis analisadas neste trabalho foram:

A) Morfológicas:

Desenvolvimento do caule (DC): determinado ou indeterminado, que tem por desvantagem o amadurecimento das cápsulas de maneira desuniforme; Hábito de crescimento (HC): prostrado, semiereto ou ereto; Padrão de crescimento (PC): não ramificado ou ramificado, distribuídos nos seguintes arranjos, oposto duas ramificações na mesma altura, alternados distribuídos em diversas aturas, três ramificações na mesma altura ou misto possui várias formas de ramificação citadas anteriormente na mesma planta; Formato da Haste (FH): varia entre redonda ou quadrada, avaliada por meio de um corte transversal da haste; Cor da haste (CH): verde, amarelo, verde arroxeadado, roxo; Pilosidade do caule (PC): glabro, fracas ou esparsas, médio, forte ou abundante; Arranjo da folha (AF): opostas, alternadas em alturas variadas, compostas por três partes trifoliales e mista presença das variáveis descritas anteriormente na mesma planta; Formato da folha (FF): lanceolada possui a base do limbo levemente arredondada e vai se fechando conforme o decorrer da folha até ficar agudo, linear são finas da base do limbo até o ápice da folha e oval possuem forma ovoide; Simetria da base foliar (SBF): forma de faca, forma de faca reversa, lisa; Margem da folha (MF):

inteira e serrilhada; Incisão da folha (IF): ausente, possui uma fenda fraca ou média na folha; Ângulo da folha da haste principal (AFHP): agudo ($<90^\circ$) ápice para cima, horizontal ($=90^\circ$) e inclinação ($>90^\circ$) ápice para baixo; Pilosidade da folha (PF): ausência de pêlos, fracas ou esparsas e médio; Cor da folha (CF): verde e verde amarelado; Nectário extrafloral (NEF): encontrados nas formas pequenas, médias e rudimentares, são glândulas produtoras de néctar; Cor da corola (CC): branco, branco com fundo sombreado rosa, rosa, violeta clara; Pigmentação da flor (PF): pigmentação ao longo da região do lábio da corola e toda pigmentada; Cor do lóbulo da flor (LF): branco com rosa sombreado, rosa e violeta; Faveólo (FV): ausência, presença; Arranjo da cápsula (AC): monocapsular uma cápsula por axila e multicapsular várias cápsulas por axila; Forma da cápsula (FC): ampla retangular, estreito retangular e quadrado; Pilosidade da cápsula (PC): ausência de pelos, esparsas, médio e abundante; Amadurecimento da cápsula (AC): deiscente, semi-indeiscente e indeiscente; Cor das sementes (CS): branco, creme e preto.

B) Agronômicas:

Altura da planta (AP) (mediu-se a distância compreendida da base até o ponteiro do caule principal da planta com o auxílio de régua graduada em centímetros); Altura de inserção do 1º fruto (APF) (mediu-se a distância compreendida da base até a inserção do primeiro fruto com o auxílio de régua graduada); Número de frutos por planta (NFP) (foram contados os frutos em cada planta selecionada levando em consideração apenas os frutos viáveis, ou seja, os que apresentavam sementes dentro das cápsulas); Número de frutos por axila foliar (NFA) (foram contados os frutos existentes por axila de folha nas plantas selecionadas); Tamanho do fruto (TF) (foi medido em centímetro com o auxílio de uma régua graduada); Peso de 1000 sementes (PMS) (obtidos em gramas, foi utilizada uma balança de precisão).

Para a caracterização dos frutos, de forma particular, foram selecionadas 5 cápsulas por planta, observando-se os descritos acima. Posteriormente, ao estabelecimento da base de dados dos descritores foram gerados dados que permitiram a inferência entre os acessos.

3.2. Extração de DNA e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Realizou-se a extração de DNA genômico de sementes de gergelim de acordo com o método de Dellaporta et al. (1983), com modificações testadas no Laboratório de

Biotecnologia da Embrapa Algodão. Vinte sementes foram submersas em 350 μL de tampão de extração (Tris-HCl 0,2 mM, pH 7,5; NaCl 280 mM; EDTA 250 mM, pH 8,0; SDS 1%) em microtubos de 2 mL e maceradas utilizando-se o Minibead (marca *BioSpec Products*, modelo *LWY*). Ao macerado foram adicionados mais 350 μL de tampão de extração. O material foi homogeneizado e centrifugado a 12000 x g por 15 minutos, em temperatura ambiente. O sobrenadante foi removido com auxílio de micropipeta para outro microtubo de 1,5 mL, identificados e com os cuidados necessários para evitar contaminação entre as fases. Acrescentou-se proteinase K (10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) e CaCl_2 1 mM, o material foi misturado por inversão e incubado em banho-maria à 37 °C por 30 minutos, sob agitação periódica. Em seguida, acrescentou-se 500 μL de isopropanol gelado e aguardou-se a precipitação por 2 horas, em gelo. Os tubos foram centrifugados nas mesmas condições anteriores. Descartou-se o sobrenadante e o precipitado foi lavado duas vezes com 500 μL de etanol 70% gelado, seguido de uma lavagem com 500 μL de etanol absoluto gelado. Os microtubos contendo os precipitados permaneceram em fluxo laminar até a completa secagem do precipitado. Posteriormente, o precipitado foi ressuspensionado com 150 μL de H_2O MilliQ autoclavada. A solução permaneceu em temperatura ambiente até a dissolução do DNA e em seguida foi armazenada à -20 °C.

As reações de PCR foram realizadas utilizando-se: DNA genômico, 10 η g; tampão de reação, 1X; MgCl_2 , 2,5 $\text{mMol}\cdot\text{L}^{-1}$; dNTPs, 0,25 $\mu\text{Mol}\cdot\text{L}^{-1}$, iniciadores senso e antisenso, 5 $\text{mMol}\cdot\text{L}^{-1}$ (Tabela 2); e Taq DNA polimerase, 2,5 U. As reações foram conduzidas em termociclador (*Amplitherm Thermal Cyclers*) com o seguinte programa: 94°C durante 4 min; seguido de 35 ciclos a 94°C durante 40s, 55°C durante 40 s e 72°C durante 1 min; e uma extensão final a 72°C durante 10 min (WEI et al., 2011). Aos produtos das reações foram adicionados 3,0 μL de tampão de amostra (azul de bromofenol 0, 25% e sacarose 40%) e 2,0 μL de SYBR® *Gold* (Invitrogen), sendo posteriormente separados por eletroforese em gel de agarose (3,5%), usando o marcador Leader (50 pb, *LudwigBiotec*). Posteriormente o padrão de bandas presentes nos géis foram fotodocumentados (marca *Imaging System* e modelo *El Logic 200*).

Tabela 2. Relação dos iniciadores SSRs com respectivos nomes e sequências de bases nitrogenadas (WEI et al., 2011).

| Iniciador | | Sequência (5' → 3') | Nº alelos | Ho | He | PIC |
|------------------|-----------|----------------------------|------------------|-----------|-----------|------------|
| ZM_10 | Senso | ATGCCCATCTCCATATACTCT | 8 | 0.83 | 0.81 | 0.76 |
| | Antisenso | AATTCTTGCCTGACTCTACG | | | | |
| ZM_11 | Senso | GGATTCTCTAGACATGGCTTT | 8 | 1.00 | 0.85 | 0.81 |
| | Antisenso | AACGCAGAATTCTCTCTACT | | | | |
| ZM_13 | Senso | GCAGAAGGCAATAAAGTCAT | 7 | 1.00 | 0.80 | 0.75 |
| | Antisenso | GCGTCAGAAGAAAAATACTGG | | | | |
| ZM_20 | Senso | GGGATGTTGATAGAGATGTTG | 10 | 1.00 | 0.86 | 0.82 |
| | Antisenso | TCTTTCACTCTCACACACACA | | | | |
| ZM_21 | Senso | CTCTCTCTCTGCTGTTTCA | 8 | 0.95 | 0.86 | 0.82 |
| | Antisenso | GCCATACGATCTCAAAATCAC | | | | |
| ZM_22 | Senso | ACCACCGATCTACTCACTTTT | 9 | 0.68 | 0.86 | 0.82 |
| | Antisenso | CCACTGCACACTACAGTTTTT | | | | |
| ZM_34 | Senso | AAGTCCCTTTTCAAGCAATC | 10 | 0.79 | 0.83 | 0.79 |
| | Antisenso | GAGAGAGGAAATGCAGAGAG | | | | |
| ZM_40 | Senso | CGAAAAGGGAGTTACAGTTAAG | 7 | 0.82 | 0.82 | 0.77 |
| | Antisenso | CTTCTCTCCTATCATCCTGT | | | | |
| ZM_45 | Senso | GCAAATCTCTGTTGTCTCAG | 18 | 0.83 | 0.83 | 0.80 |
| | Antisenso | GCAAATCTCTGTTGTCTCAG | | | | |
| ZM_47 | Senso | GTTTCCAGGTCTATTCCTTTG | 10 | 0.71 | 0.83 | 0.79 |
| | Antisenso | AGGTAGAGCTAATCCTTACCG | | | | |

Ho: heterozigose observada; He: heterozigose esperada; PIC: conteúdo de informação de polimorfismo.

3.3. Análise dos dados

O estudo da diversidade genética foi realizado a partir de informações das medidas de dissimilaridade obtidas das variáveis quantitativas contínuas, que assumem dentro de um intervalo finito, uma infinidade de valores, incluindo inteiros e fracionados. E por variáveis qualitativas multicategóricas ordinal, onde não possuem valores quantitativos, mas são definidas por várias categorias representando uma classificação individual, utilizados comumente no melhoramento vegetal.

Procedeu-se a ANAVA com os dados quantitativos usados comumente quando se tem certeza da heterogeneidade do ambiente. Posteriormente, foi realizada a estimação das medidas de distância de Mahalanobis para a obtenção das medidas de dissimilaridade quantitativas, a matriz foi gravada para ser utilizada posteriormente nos procedimentos de agrupamento (CRUZ, 2006).

As medidas de distância de Mahalanobis foram obtidas por meio da seguinte expressão:

$$D_{ii'}^2 = \delta' \Psi^{-1} \delta$$

$D_{ii'}^2$: distância de Mahalanobis entre os acessos i e i' ;

Ψ : matriz de variância e covariâncias residuais;

$\delta' = [d_1 \ d_2 \ \dots \ d_v]$, sendo $d_j = Y_{ij} - Y_{i'j}$; e Y_{ij} : média do i -ésimo genótipo em relação à j -ésima variável.

Caracteres multicatégoricos são comumente utilizados no melhoramento vegetal, principalmente relacionados com particularidades morfológicas da planta. Portanto, os valores morfológicos foram ordenados, estabelecendo uma escala numérica e analisados como dados quantitativos, permitindo estimar a dissimilaridade considerando um conjunto de variáveis multicatégoricas por meio do índice:

$$S_{ii'} = \frac{C}{C + D}$$

Em que:

C: total de concordância de categorias para todas as variáveis consideradas; e

D: total de discordância de categoria para todas as variáveis consideradas (CRUZ, 2008).

A análise por marcadores co-dominantes mutialélicos, foi realizada com a finalidade de estimar a dissimilaridade entre acessos. Essa técnica possibilita identificar genótipos heterozigotos e homozigotos gerando informação em nível genético. Foi gerado arquivo de dados, em função do número de alelos por loco. Assim se o loco apresenta três alelos tem-se a representação 11, 22 e 33 para homozigotos e 12, 13 e 23 para heterozigotos, para o processamento dos dados foi utilizado o índice não ponderado (CRUZ, 2008).

A partir dos dados obtidos foi realizada a estatística descritiva, o número total e efetivo de alelos por loco, os coeficientes de endogamia, heterozigose esperada e observada mensuradas para quantificar a diversidade genética. Além do conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) dos marcadores moleculares que foi calculado por meio da equação:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^a p_i^2 - \sum_{i,j=1 (i \neq j)}^a p_i^2 p_j^2$$

p_i : é a frequência do i -ésimo alelo no loco estudado; e

p_j : é a frequência do j -ésimo alelo no loco estudado (BOTSTEIN et al., 1980).

Heterozigosidade esperada (H_e), estimada com base na seguinte equação:

$$H_e = 1 - \sum_{j=1}^a p_j^2$$

Heterozigosidade observada (H_o), estimada com base na seguinte equação:

$$H_o = 1 - \frac{\sum_{j=1, j \neq i}^a n_{ij}}{N}$$

Coefficiente de endogamia (F), estimado com base na seguinte equação:

$$F = 1 - \frac{H_\epsilon}{H_0}$$

Lembrando que:

H_0 : frequência de heterozigotos numa população supostamente em equilíbrio de Hardy-Weinberg; e

H_ϵ : frequência de heterozigotos numa população sujeita a cruzamento entre aparentados (dada por $2pq - 2^\epsilon$, quando se consideram apenas dois alelos por loco e $\epsilon = pqF$).

Quando se encontra valor negativo para F, que deve ser interpretado como estimativa de endogamia nula, de forma que na população não há cruzamento entre aparentados.

3.3.1. Análise conjunta dos marcadores

A análise da divergência foi realizada a partir da soma das características agronômicas, morfológicas e moleculares através de informações múltiplas de cada acesso e expresso em medidas de dissimilaridade, que representam a diversidade que há no conjunto de acessos estudados.

Para a análise com base em índice de distância, foram estimadas as distâncias genéticas entre os acessos através de uma nova matriz de dissimilaridade, cujos elementos correspondem à soma dos elementos das matrizes qualitativas e quantitativas, correspondentes aos dados morfológicos, agronômicos e moleculares obtidos previamente, que se destinaram ao cálculo da soma das medidas de dissimilaridade a partir de um conjunto de matrizes (CRUZ, 2008).

Os valores de dissimilaridade de cada matriz foram padronizados antes de realizar a operação de soma, realizada por meio de:

$$d_{pij} = \frac{d_{ij}}{\sigma_d}$$

Além da análise gerada pela soma entre as matrizes de dissimilaridade com os dados qualitativos e quantitativos, também foi realizada a correlação entre matrizes que se destina ao cálculo da correlação entre as medidas de dissimilaridade fornecidas entre pares de matrizes e a significância do valor obtido pelos testes de t e Mantel (CRUZ, 2008).

Posteriormente a obtenção da matriz, procedeu-se o agrupamento sequencial hierárquico por meio dos métodos de Otimização de Tocher e UPGMA. Procedeu-se a comparação entre as matrizes de distância e de agrupamento, com a finalidade de facilitar a identidade dos acessos estudados.

Todos os procedimentos estatísticos foram realizados através do programa GENES, versão 2015.5.0 (CRUZ, 2013).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Realizou-se a fenotipagem a partir das características morfoagronômicas e a genotipagem por marcadores moleculares para mensurar a variabilidade existente entre os genótipos estudados. Por meio dos dados coletados, algumas variáveis não demonstraram divergência, ou seja, foram consideradas irrelevantes por não discriminarem os acessos e não foram incluídas nas avaliações estatísticas, como: (a) padrão de crescimento (todas as plantas possuíam padrão de crescimento não ramificado); (b) ausência e presença de faveóla (presentes em todas as flores); (c) abertura da cápsula ao amadurecimento (todos os acessos apresentaram características de frutos deiscentes, ou seja, os frutos abriram-se durante o período de amadurecimento da planta de forma assíncrona ocasionando possível perda de sementes até mesmo através da ação do vento).

Os resultados obtidos nas demais variáveis mensuradas foram direcionados para a comparação das plantas onde se constatou variações morfológicas entre os acessos estudados. Os descritores morfológicos e as características predominantes correspondentes a cada genótipo encontram-se na Tabela 3. A caracterização de genótipos de gergelim é essencial para identificar o maior número de propriedades favoráveis para seleção daqueles mais promissores, visando reuni-las através de cruzamentos entre os acessos mais divergentes.

Tabela 3. Caracterização e classificação dos acessos de gergelim a partir dos descritores morfológicos avaliados.

| Descritores | Predominância das características | Acessos |
|--------------------------|-----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Desenvolvimento do caule | Determinado (25%) | BAG 172; BAG 612; BAG 664; G4; BAG 536; BAG 666; BAG 608; G3; BAG 606; BAG 606 |
| | Indeterminado (75%) | BAG 586; BAG 591; BAG 615; BAG 616; BAG 648; BAG 200; BAG 619; BAG 221; BAG 177; BAG 257; BAG 579; BAG 698; BAG 649; BAG 668; BAG 587; BAG 235; BAG 511; BAG 232; BRA 2135; G6; G 5; BAG 673; BAG 141; BAG |

| | | |
|---------------------|----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | 663; BAG 688; BAG 687; BAG 675 |
| Hábito crescimento | Ereto (97%) | BAG 612; BAG 664; G4; BAG 536; BAG 666; BAG 608; G3; BAG 606; BAG 606; BAG 586; BAG 591; BAG 615; BAG 616; BAG 648; BAG 200; BAG 619; BAG 221; BAG 177; BAG 257; BAG 579; BAG 698; BAG 649; BAG 668; BAG 587; BAG 235; BAG 511; BAG 232; BRA 2135; G6; G5; BAG 673; BAG 141; BAG 663; BAG 688; BAG 687; BAG 675 |
| | Semiereto (3%) | BAG 172 |
| Formato da haste | Quadrada (97%) | BAG 616; BAG 536; BAG 666; BAG 608; BAG 606; BAG 586; BAG 591; G6; G5; BAG 673; BAG 141; BAG 688; BAG 687; BAG 172; G4; BAG 612; BAG 664; BAG 619; BAG 221; BAG 177; BAG 257; BAG 579; BAG 698; BAG 649; BAG 668; BAG 587 BAG 235; BAG 232; BAG 511; BAG 615; BRA 2135; G3; BAG 200; BAG 663; BAG 675 |
| | Redonda (3%) | BAG 648 |
| Cor da haste | Amarelo (6%) | G4; BRA 2135 |
| | Verde (94%) | BAG 172; BAG 612; BAG 664; BAG 536; BAG 666; BAG 608; G3; BAG 606; BAG 606; BAG 586; BAG 591; BAG 615; BAG 616; BAG 648; BAG 200; BAG 619; BAG 221; BAG 177; BAG 257; BAG 579; BAG 698; BAG 668; BAG 587; BAG 235; BAG 511; BAG 232; BRA 2135; G6; G5; BAG 673; BAG 141; BAG 663; BAG 688; BAG 687; BAG 675 |
| | | |
| Pilosidade do caule | Forte e abundante (3%) | BAG 616 |
| | Fracas ou esparsas (78%) | BAG 536; BAG 666; BAG 608; BAG 606; BAG 586; BAG 591; G6 G5; BAG 673; BAG 141; BAG 688; BAG 687; BAG 172; G4; BAG 612; BAG 664; BAG 648; BAG 619; BAG 221; BAG 177; BAG 257; BAG 579; BAG 698; BAG 649; BAG 668; BAG 587; BAG 235; BAG 232 |
| | Glabro ou ausência de pelos (6%) | BAG 511; BAG 615 |
| | Médio (13%) | BRA 2135; G 6,3; BAG 200; BAG 663; BAG 675 |
| Arranjo da folha | Alternado (19%) | BAG 666; BAG 606; BAG 612; BAG 587; BRA 2135; BAG 648; G4 |
| | Misto (81%) | BAG 616; BAG 536; BAG 608; BAG 591; G6; BAG 141; BAG 688 BAG 172; BAG 619; BAG 221; BAG 177; BAG 257; BAG 698; BAG 649; BAG 668; BAG 235; BAG 232; BAG 511; BAG 615; G3; BAG 200; BAG 663; BAG 675; BAG 687; BAG 579; BAG |

| | | |
|------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | 586; G5; BAG 673; BAG 664 |
| Formato da folha | Lanceolada (86%) | BAG 666; BAG 606; BAG 612; BAG 587; BRA 2135; BAG 616; BAG 536; BAG 608; BAG 591; G6; BAG 141; BAG 688; Bag 172; BAG 619; BAG 221; BAG 177; BAG 257; BAG 649; BAG 668; BAG 235; BAG 232; BAG 511; BAG 615; G3; BAG 200; BAG 675; |
| | Linear (3%) | BAG 648 |
| | Oval (11%) | BAG 698 ; G4; BAG 673; BAG 663 |
| Simetria da base foliar | Forma de faca (19%) | BAG 666; BAG 616; BAG 591; BAG 688; BAG 221; BAG 232; BAG 579 |
| | Forma de faca reverso (11%) | BAG 587; BAG 141; BAG 687; BAG 673 |
| | Liso (69%) | BAG 606; BAG 612; BRA 2135; BAG 536; BAG 608; G6; Bag 172; BAG 619; BAG 177; BAG 257; BAG 649; BAG 668; BAG 235; BAG 511; BAG 615; G3; BAG 200; BAG 675; BAG 586; G5; BAG 664; BAG 648; G4; BAG 698; BAG 663 |
| Margem da folha | Inteira (87%) | BAG 666; BAG 616; BAG 591; BAG 688; BAG 221; BAG 232; BAG 579; BAG 587; BAG 141; BAG 606; BAG 612; BAG 2135; BAG 536; BAG 608 G6; Bag 172; BAG 619; BAG 177; BAG 257; BAG 668; BAG 235; BAG 511; BAG 615; G3; BAG 200; BAG 675; BAG 586; G5; BAG 664; BAG 698; BAG 663 |
| | Serrada (13%) | BAG 687; BAG 673; BAG 649; BAG 648; G4 |
| Incisão da folha | Ausente (91%) | BAG 666; BAG 616; BAG 591; BAG 688; BAG 221; BAG 232; BAG 579; BAG 587; BAG 141; BAG 606; BRA 2135; BAG 536; BAG 608 G6; BAG 172; BAG 619; BAG 177; BAG 257; BAG 668; BAG 235; BAG 511; BAG 615; G3; BAG 200; BAG 675; BAG 586; G5; BAG 664; BAG 698; BAG 663; BAG 687; BAG 649; BAG 648 |
| | Fraco (6%) | BAG 612; BAG 673 |
| | Médio (3%) | G4 |
| Ângulo da folha da haste principal | Agudo (<90°) (6%) | BAG 232; BAG 687 |
| | Horizontal (=90°) (80%) | BAG 666; BAG 616; BAG 591; BAG 688; BAG 221; BAG 579; BAG 587; BAG 141; BAG 606; BRA 2135; BAG 536; BAG 608; G6; BAG 172 BAG 619; BAG 257; BAG 668; BAG 511; G3; |

| | | |
|--------------------------|------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | BAG 200; BAG 586; G5; BAG 698; BAG 663; BAG 649; BAG 648; BAG 612; BAG 673; G4 |
| | Inclinação (>90°) (14%) | BAG 235; BAG 675; BAG 664; BAG 177; BAG 615 |
| Pilosidade da folha | Fracas ou esparsas (78%) | BAG 616; BAG 536; BAG 666; BAG 608; BAG 606; BAG 591; G6 BAG 141; BAG 688; BAG 172; BAG 612; BAG 619; BAG 221; BAG 177; BAG 257; BAG 698; BAG 649; BAG 668; BAG 587; BAG 235; BAG 232; BAG 511; BAG 615; BRA 2135; G3; BAG 200; BAG 663; BAG 675 |
| | Médio (6%) | BAG 687; BAG 579 |
| | Ausência pelos (16%) | BAG 586; G5; BAG 673; BAG 664; BAG 648; G4 |
| Cor da folha | Verde (97%) | BAG 616; BAG 536; BAG 666; BAG 608; BAG 606; BAG 586 BAG 591; G6; G G5; BAG 673; BAG 141; BAG 688; BAG 687 BAG 172; BAG 612; BAG 664; BAG 619; BAG 221; BAG 177 BAG 257; BAG 579; BAG 698; BAG 649; BAG 668; BAG 587; BAG 235; BAG 232; BAG 511; BAG 615; BRA 2135; G3; BAG 200; BAG 663; BAG 675; BAG 648 |
| | Verde amarelado (3%) | G4 |
| Nectário extra-floral | Médio (47%) | BAG 687; BAG 666; BAG 688; BAG 587; BAG 141; BAG 536; BAG 608; G6; BAG 172; BAG 619; BAG 257; BAG 668; G5; BAG 612; G4; BAG 235; BAG 664 |
| | Pequeno (17%) | BAG 606; BAG 511; BAG 586; BAG 649; BAG 648; BAG 177 |
| | Rudimentar (36%) | BAG 232; BAG 616; BAG 591; BAG 221; BAG 579; BRA 2135; G3; BAG 200; BAG 698; BAG 663; BAG 673; BAG 675; BAG 615 |
| Cor da corola | Branco com rosa sombreada (64%) | BAG 687; BAG 666; BAG 688; BAG 587; BAG 141; BAG 608; G6; BAG 668; BAG 232; BAG 579; BRA 2135; BAG 698; BAG 663; BAG 673; BAG 675; BAG 172; BAG 619; BAG 612; BAG 586; BAG 616; BAG 221; BAG 200; BAG 615 |
| | Branco (11%) | BAG 648; G4; BAG 664; BAG 606 |
| | Rosa (3%) | G3 |
| | Violeta clara (22%) | BAG 536; BAG 257; G5; BAG 235; BAG 511; |

| | | |
|-----------------------|---------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | BAG 649; BAG 177; BAG 591 |
| Pigmentação da flor | Pigmentação ao longo da região do lábio da corola (98%) | BAG 666; BAG 673; BAG 586; BAG 606; BAG 687; BAG 688; BAG 587; BAG 141; BAG 608; G6; BAG 668; BAG 232; BAG 579; BRA 2135; BAG 698; BAG 663; BAG 675; BAG 172; BAG 619; BAG 612; BAG 616; BAG 221; BAG 615; G4; BAG 664; BAG 257; BAG 235; BAG 177; G3; G5; BAG 536; BAG 511; BAG 649; BAG 591 |
| | Toda pigmentada (2%) | BAG 648; BAG 200 |
| Cor do lóbulo da flor | Rosa (8%) | BAG 687; BAG 688; BAG 587; BAG 141; BAG 608; G6; BAG 668; BAG 232; BAG 579; BRA 2135; BAG 698; BAG 663; BAG 675; BAG 172; BAG 619; BAG 612; BAG 616; BAG 221; BAG 200; BAG 615; G4; BAG 664; BAG 257; BAG 235; BAG 177 BAG 666; BAG 673; BAG 586; BAG 606; G3; G5 BAG 536; BAG 511; BAG 649; BAG 591 |
| | Violeta (19%) | BAG 648; BAG 200 |
| Arranjo da cápsula | Monocapsular (17%) | BAG 666; BAG 619; BAG 612; G3; BAG 536; BAG 511 |
| | Multicapsular (83%) | BAG 606; BAG 687; BAG 608; BAG 668; BAG 232; BAG 663; BAG 675; BAG 172; BAG 616; BAG 200; G4; BAG 664; BAG 257; BAG 235; BAG 177; BAG 591; BAG 648; BAG 673; BAG 586; BAG 587; G6; BAG 579; BRA 2135; BAG 698; BAG 221; BAG 615; G5; BAG 649; BAG 688; BAG 141 |
| Forma da cápsula | Ampla rectangular (61%) | BAG 666; BAG 606; BAG 687; BAG 608; BAG 668; BAG 232; BAG 663; BAG 675; BAG 172; BAG 619; BAG 612; BAG 616; BAG 200; G4; BAG 664; BAG 257; BAG 235; BAG 177; G3; BAG 536; BAG 591; BAG 648 |
| | Estreito rectangular (33%) | BAG 673; BAG 586; BAG 587; G6; BAG 579; BRA 2135; BAG 698; BAG 221; BAG 615; G5; BAG 511; BAG 649 |
| | Quadrado (5%) | BAG 688; BAG 141 |
| Pilosidade da cápsula | Abundante (11%) | BAG 232; BAG 172; BAG 616; BAG 177 |
| | Esparsas (64%) | BAG 666; BAG 619; BAG 612; BAG 511; BAG 606; BAG 687; BAG 668; BAG 663; G4; BAG 664; BAG 235; BAG 591; BAG 648; BAG 673; BAG 586; BAG 579; BAG 698; BAG 221; BAG 615; G5; BAG 649; BAG 688; BAG 141 |
| | Médio (22%) | G3; BAG 536; BAG 675; BAG 200; BAG 257; BAG 587; G6; BRA 2135 |

| | | |
|----------------|------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | Ausência de pelos (3%) | BAG 608 |
| Cor da semente | Branco (55%) | G6; BAG 616; BAG 619; BAG 612; BAG 687; BAG 668; BAG 663; G4 BAG 664; BAG 591; BAG 673; BAG 586; BAG 579; BAG 698; BAG 615; BAG 649; BAG 688; BAG 141; G3; BAG 675 |
| | Branco e crème (22%) | BAG 172; BAG 177; BAG 666; BAG 235; G5; BAG 587 ; BRA 2135 BAG 608; BAG 232; BAG 606; BAG 536 |
| | Crème (8,3%) | BAG 648; BAG 221; BAG 257 |
| | Crème e preta (2,7%) | BAG 200 |
| | Preto (2,7%) | BAG 511 |

A partir da caracterização morfológica da coleção de gergelim, verificou-se que os descritores mais divergentes foram: pilosidade do caule, folhas e cápsulas; formato da folha; simetria da base foliar; ângulo da folha da haste principal; nectário extrafloral; cor da corola das flores; forma das cápsulas e cor das sementes. Contudo, os demais descritores também possuem importância diante da eficiência para a diferenciação do BAG de gergelim.

Observou-se ainda que cerca de 97% dos acessos possuem hábito de crescimento com porte ereto. Além de acessos precoces como o BAG 591 e BAG 649 comparando-se os 36 acessos em campo. Os resultados obtidos corroboram com o descrito por Pinto e Arriel (2014) onde a seleção de acessos superiores com qualidades como ciclo de maturação precoce e hábito de crescimento não ramificado permite aumentar o número de plantas por unidade de espaçamento, implicando no aumento do número de plantas por área cultivada.

Em relação ao caráter cor das sementes (Figura 2), foi observado que cerca de 55% dos acessos analisados, as sementes possuíam coloração branca. Silva et al. (2011) afirmaram que o gergelim branco apresenta maior teor de lipídios, carboidratos, fibra alimentar solúvel e valor calórico. As sementes de gergelim de cor preta possuem maior concentração de oxalato de cálcio, que determina sabor mais amargo às sementes. Por este motivo as sementes descascadas e brancas são mais utilizadas no consumo direto

pelas padarias, confeitarias entre outras indústrias alimentícias (QUEIROGA et al., 2010).



Fotografia: Nair Helena Castro Arriel

Figura 2. Diversidade nas cores das sementes de gergelim avaliadas.

Foi realizada a análise de variância para os seis descritores agronômicos: altura de inserção do primeiro fruto, número de frutos por plantas, número de frutos por axila, tamanho do fruto e peso de mil sementes. Observou-se diferença significativa ($P < 0,01$) em todas as variáveis (Tabela 4). Alguns autores relataram que essas variáveis auxiliam para a caracterização de gergelim. Manivannan e Nadarajan (1996) constataram que o número de cápsulas contribuiu para a caracterização de 52 acessos de gergelim. Singh et al. (1997) também observou que o rendimento de sementes contribuiu para variabilidade entre 33 genótipos. Swain e Dikshit (1997) associaram o peso de mil sementes e comprimento da cápsula como as características que mais contribuíram para explicação da variabilidade entre 40 genótipos de gergelim. Ratificando que as variáveis estudadas são úteis na avaliação da variabilidade entre os 36 genótipos estudados.

Em estudo realizado por Arriel et al. (2007) envolvendo 108 acessos de gergelim do BAG foi constatado que a inserção das primeiras cápsulas variou entre 25 a 161,3 cm, esta informação está diretamente relacionada a altura média das plantas, que variou entre 149,0 a 310,7 cm. No presente estudo a avaliação das características quantitativas mensuradas, altura de inserção do 1º fruto foi 12 a 74,6 cm e a altura média das plantas variou entre 74 a 226 cm, havendo uma relação entre as informações mensuradas nos

trabalhos, uma vez que a altura de inserção do primeiro fruto esta relacionada com a altura da planta.

Tabela 4. Resumo das análises de variância obtidas para os seis caracteres agronômicos avaliados em 36 genótipos de gergelim em Patos-PB, 2015.

| Fonte de variação | GL | Quadrados Médios | | | | | |
|-------------------|-----|------------------|-----------|------------|--------|--------|--------|
| | | AP | APF | NFP | NFA | TF | PMS |
| Repetições | 4 | 0,03 | 26,85 | 9586,00 | 0,54 | 0,07 | 0,00 |
| Genótipos | 35 | 0,89** | 1666,53** | 28882,17** | 6,13** | 0,51** | 1,48** |
| Resíduos | 140 | 0,03 | 114,22 | 10901,50 | 0,23 | 0,07 | 0,00 |
| Média | | 1,43 | 37,44 | 206,35 | 2,86 | 3,11 | 3,02 |
| CV (%) | | 12,63 | 28,54 | 50,59 | 16,37 | 8,78 | 0,02 |

**Significativo pelo teste F ($P < 0,01$). Altura da planta (AP); altura de inserção do 1° fruto (APF); Número de frutos por planta (NFP); Número de frutos por axila foliar (NFA); Tamanho do fruto (TF); Peso de 1000 sementes (PMS).

No caso dos coeficientes de variação, constatou-se que eles assumiram percentuais variáveis entre os caracteres, com maior percentual para característica número de frutos por planta (NFP), posteriormente o número de frutos por axila foliar (NFA) corroborando com o resultado morfológico, no qual se constatou que 83% dos acessos são multicapsular, considerando o caráter que exerceu maior influência entre os acessos. Em seguida o segundo maior percentual para característica a variável altura de inserção do 1° fruto (APF) característica muito importante que contribui para a realização da colheita mecanizada (BELTRÃO et al., 2013).

Foi possível observar que as variáveis agronômicas permitiram maior inferência no estudo da diversidade genética que as morfológicas corroborando com os resultados descritos por Arriel (2004). A baixa variabilidade morfológica entre os acessos possivelmente está relacionada à estreita base genética dos genótipos em estudo ou,

possivelmente, o número de genes envolvidos no domínio das variáveis qualitativas tende a apresentar herança monogênica (MONTILLA et al., 1990).

Na estimativa realizada por marcadores moleculares, todos os marcadores microssatélites geraram perfis de bandas nos genótipos de gergelim analisados, exibindo variabilidade significativa. Foram selecionados dez pares de iniciadores mais polimórficos (WEI et al., 2011) que funcionaram para avaliação dos 36 acessos do BAG da Embrapa Algodão. Todas as amplificações foram repetidas pelo menos três vezes e somente as bandas reprodutíveis foram consideradas.

Após a realização das análises dos géis, dez locos SSR revelaram 22 alelos. O número de alelos por loco variou de 1 a 3, com média de 2 alelos por loco, amplificados entre a altura de 100 e 200 pares de base, resultado compatível ao descrito por Wei et al. (2011). Foi observado que o iniciador ZM-21 é monomórfico, ou seja, apresenta o mesmo padrão de amplificação em todas as bandas. O valor do conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) foi aplicado para avaliar a capacidade do marcador em distinguir os genótipos, o resultado obtido neste teste variou entre 0,0 a 0,53 com média de 0,27, indicando que existe polimorfismo entre os marcadores, essa informação é de grande importância para caracterizar a diversidade, pois fornece uma estimativa do poder discriminatório do marcador (Tabela 5). Cruz (2008) descreveu que um marcador é considerado polimórfico quando $PIC \geq 0,1$ e altamente polimórfico quando $PIC \geq 0,7$. A média de heterozigose esperada (H_e) foi 0,34 e heterozigose observada (H_o) foi de 0,12 e o coeficiente médio de endogamia (F) foi igual a 0,62. Esses valores indicam considerável grau de endogamia nos genótipos, ou seja, união de indivíduos mais aparentados do que a média da população, uma vez que, se o valor de F for nulo significa que não houve cruzamento entre aparentados. Wu et al. (2014) afirma que cultivares melhoradas de gergelim tem base genética estreita em relação às variedades crioulas. Portanto, a análise pode indicar uma possível associação entre genótipos de um mesmo local ou até mesmo de cultivares já melhoradas.

Wei et al. (2011) descreveu que a maioria dos 40 locos microssatélites foram polimórficos. O número de alelos por loco variou entre 4 a 18, com média de 6,55 alelos por loco. O conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) variou entre 0,46 e 0,82 com média de 0,70. A média de heterozigose observada foi de 0,84 enquanto o valor da heterozigose esperada foi de 0,76. O alto valor nos resultados citados pode ser pelo amplo número de iniciadores utilizados, uma vez que, foram avaliados 40 oligonucleotídeos em 24 genótipos, enquanto neste estudo avaliou-se 10

oligonucleotídeos em 36 genótipos. Por conseguinte, os resultados encontrados neste trabalho condizem com o reportado por esses autores.

Tabela 5. Informações dos iniciadores SSR: heterozigosidade esperada (He), observada (Ho), coeficiente de endogamia (F) e o conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) em gergelim.

| Iniciador | N° de alelos | He | Ho | F | PIC |
|-----------------------|---------------------|-----------|-----------|----------|------------|
| ZM_10 | 2 | 0.42 | 0.0 | 1.0 | 0.33 |
| ZM_11 | 2 | 0.47 | 0.22 | 0.53 | 0.36 |
| ZM_13 | 2 | 0.19 | 0.0 | 1.0 | 0.17 |
| ZM_20 | 2 | 0.47 | 0.0 | 1.0 | 0.36 |
| ZM_21 | 1 | 0.0 | 0.0 | 1.0 | 0.0 |
| ZM_22 | 3 | 0.60 | 0.44 | 0.26 | 0.53 |
| ZM_34 | 3 | 0.50 | 0.11 | 0.78 | 0.39 |
| ZM_40 | 2 | 0.02 | 0.02 | -0.01 | 0.02 |
| ZM_45 | 3 | 0.55 | 0.47 | 0.14 | 0.44 |
| ZM_47 | 2 | 0.15 | 0.0 | 1.0 | 0.14 |
| Média esperada | | 0.34 | 0.12 | 0.62 | 0.27 |

Os iniciadores ZM-22, ZM-34 e ZM-45 (Tabela 5; Figura 3) destacaram-se por possuírem maior grau de polimorfismo indicados para o estudo de diversidade genética em gergelim.

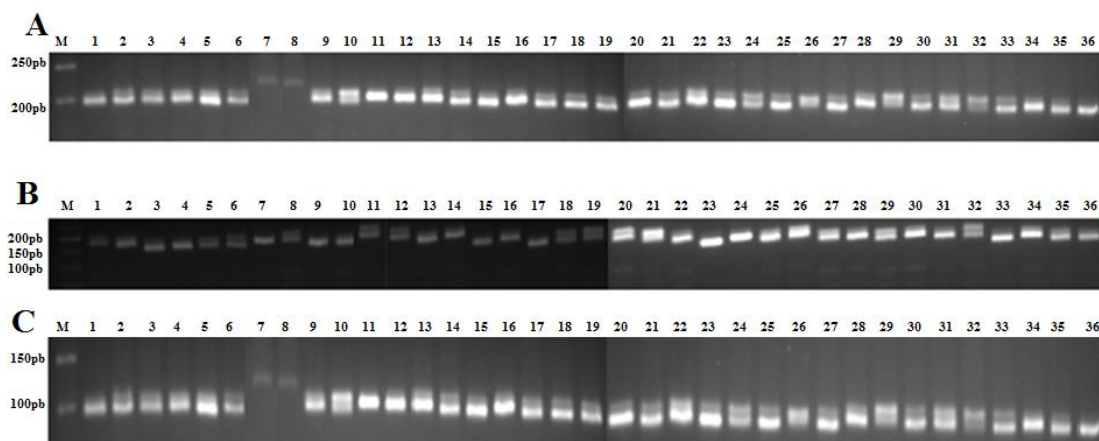


Figura 3. Padrão de bandas obtidos com os iniciadores ZM-22 (A); ZM-34 (B) e ZM-45 (C) M – marcador 1Kb (*Ludwig Biotec*).

Observou-se uma diferenciação no padrão de amplificação dos genótipos BRA 31623 (Figura 3, amostra 7) e BRA 26093 (Figura 3, amostra 8), indicando uma possível marca molecular divergente da maioria. É importante ressaltar que esses acessos se destacaram dos demais em relação ao maior peso de mil sementes e plantas de menor porte. Por meio das análises estatísticas esses acessos também permaneceram associados nos métodos de Tocher e UPGMA indicando um alto grau de similaridade entre eles.

Para concretizar a análise de agrupamento morfológico, agronômico e molecular foi realizada a soma das matrizes de dissimilaridade não ponderadas, ou seja, foram atribuídos pesos iguais aos indivíduos. As medidas de dissimilaridade dos dados, morfológicos, agronômicos e moleculares foram padronizadas, as informações múltiplas de cada cultivar foram expressas em medidas de dissimilaridade, que representam a diversidade existente no conjunto de acessos estudados. Fundamentando-se na obtenção da matriz, foram constituídos agrupamentos com os 36 acessos de gergelim por meio das técnicas de agrupamento de Tocher e UPGMA.

No agrupamento pelo método de otimização de Tocher foi utilizada a soma das matrizes de dissimilaridade não ponderadas com as medidas padronizadas (Tabela 6). Ocorreu a formação de nove agrupamentos, com o grupo 1 formado por 50% dos acessos. O BAG-511 (Grupo 7), BAG-687 (Grupo 8) e G4 (Grupo 9) formaram grupos únicos, os demais acessos formaram cinco agrupamentos. O grupo 1 reuniu a maior parte dos genótipos, entre eles o genótipo G6 de origem mexicana, a BAG 591 e a BAG

649 consideradas mais precoces durante as avaliações morfológicas, as cores das sementes variaram entre branco e creme, todos os acessos possuem os arranjos das cápsulas multicapsulares. No grupo 2 foram associadas as cores das sementes que variaram entre branco, creme e preto, as características morfológicas foram similares entre os acessos existindo pouca variação no arranjo da cápsula, com arranjos mono e multicapsular, e houve grande variação na pilosidade da cápsula. O grupo 6 deteve os acessos com a menor altura das plantas e maior produção de sementes.

Tabela 6. Agrupamento dos acessos de gergelim pelo método de otimização de Tocher, a partir dos dados morfoagronômicos e moleculares.

| Grupos | Genótipos |
|---------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | BAG-177 BAG-257 BAG-606 BAG-586 BAG-579 BAG-619 BAG-698 BAG-615 BAG-221 BAG-591 BAG-688 BAG-141 G6 BAG-232 BAG-675 BAG-587 BRA-2135 BAG-649 |
| 2 | BAG-536 BAG-666 BAG-608 BAG-235 BAG-172 |
| 3 | BAG-668 BAG-663 BAG-673 G6.5 |
| 4 | BAG-612 BAG-664 |
| 5 | BAG-616 G3 |
| 6 | BAG-648 BAG-200 |
| 7 | BAG-511 |
| 8 | BAG-687 |
| 9 | G4 |

Posteriormente, foi empregada à análise UPGMA com embasamento na ligação média não ponderada entre os grupos, o dendograma permitiu a constituição de uma árvore de ramos interconectados (Figura 4). A análise pareceu ser mais efetiva que o método de Tocher e contribuiu para a distinção dos acessos, revelando sete grupos ao se adotar um ponto de corte no percentual de divergência genética em 63%.

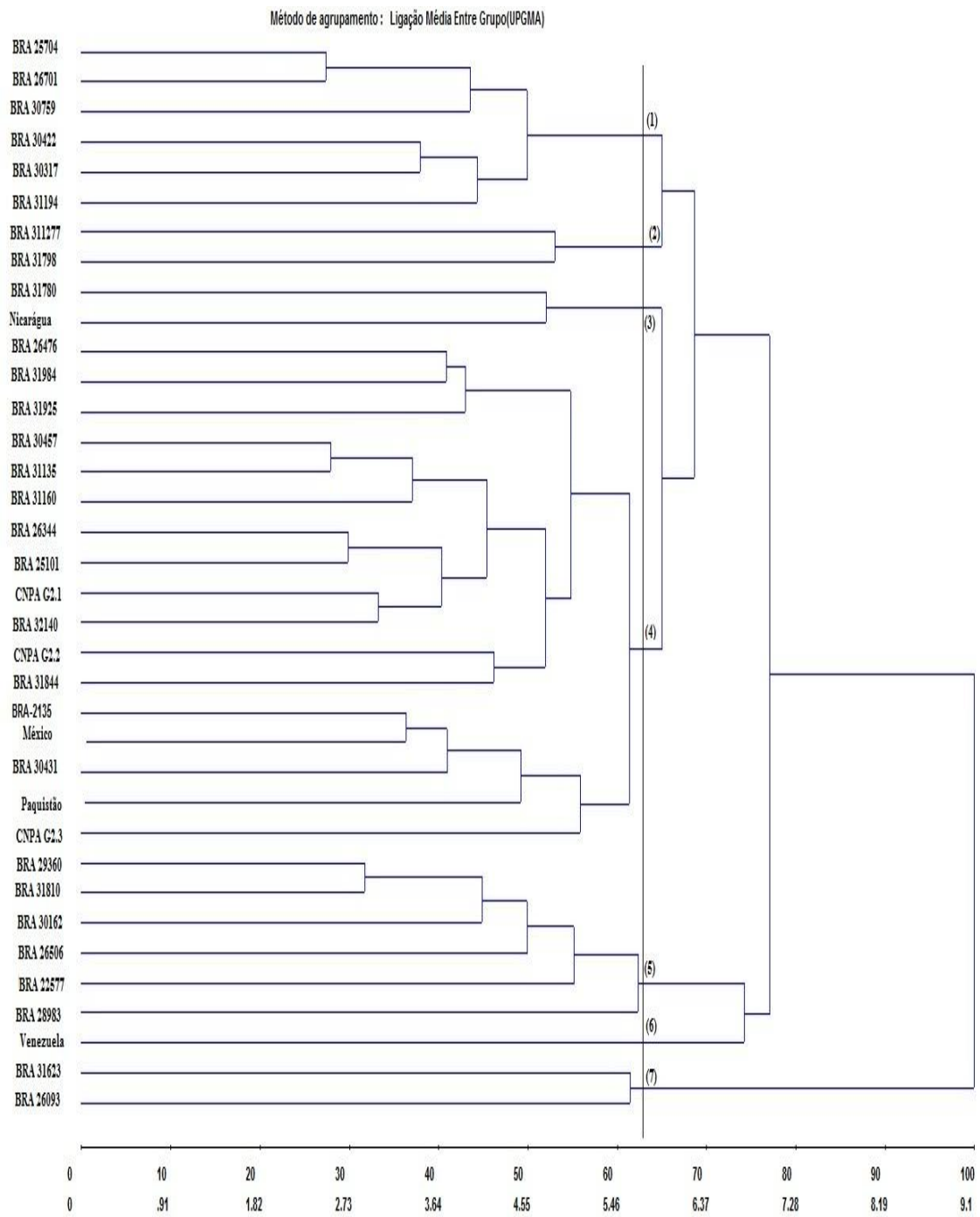


Figura 4. Dendrograma obtido pelo método de agrupamento hierárquico UPGMA

Nos grupos 1, 2, 5 e 7 predominaram sementes de cor branca. Os acessos do grupo 1, 2 e 5 apresentaram em comum a pilosidade do caule fraca e margem da folha inteira. O acesso BRA 311277 foi o único que apresentou ausência da incisão global da folha comparado a todos os acessos do estudo. No grupo 7, os acessos apresentaram a cor da corola toda pigmentada outra peculiaridade observada neste grupo foi em relação à altura das plantas que foram as mais baixas, porém com os maiores valores do peso de mil sementes.

Os grupos 2, 3 e 4 foram aglomeradas as plantas mais altas, conseqüentemente a altura de inserção do 1º fruto também foram mais altos, foram obtidos a maior quantidade de frutos por planta e o maior tamanho dos frutos, características agronômicas importantes.

O grupo 4 deteve a maior quantidade dos acessos, entre estes a cultivar CNPA G2 lançada pela Embrapa Algodão e acessos do Paquistão e do México. Estão presentes também os acessos BAG 591 e BAG 649, considerados os mais precoces, as cores das sementes variaram entre branco, creme e preta predominando a cor branca. Forma do caule indeterminada, com plantas altas, indicando que alguns acessos apresentam níveis de similaridade elevadas. O genótipo CNPA G2 faz parte da coleção de trabalho da Embrapa Algodão juntamente com as cultivares CNPA G3 e a CNPA G4 que não estão no trabalho.

Arriel et al. (2006) afirmaram que a cultivar CNPA G2 possui ciclo médio e tolerância a mancha angular, os autores ainda afirmaram que o agrupamento dos acessos é alterado em função dos diferentes métodos hierárquicos. E que o método UPGMA apresentou melhor ajuste das distâncias originais e estimadas do coeficiente de correlação cofenética (CCC), por este motivo é um dos métodos hierárquicos mais utilizados no melhoramento vegetal, a melhor eficácia do método também já foi relatada por Dias (1998), corroborando com o resultado obtido neste estudo que ao comparar os grupos formados pelo método de otimização de Tocher com o método UPGMA, verificou-se que o segundo método proporcionou uma melhor representação.

Por meio do teste de correlação entre as matrizes, foram avaliados os dados morfológicos, agronômicos e moleculares. Adotaram-se os testes de probabilidade t e Mantel. Na Tabela 7 estão descritos os dados das correlações entre as matrizes obtidas pelo teste t. Apesar da maioria dos índices de correlação apresentar valores acima da média, estes não foram significativos, existindo apenas correlação significativa e alta ($r= 0,82$) entre os dados das matrizes agronômicos e moleculares.

Tabela 7. Correlação entre pares de matrizes de dissimilaridade com dados qualitativos e quantitativos.

| Correlação entre Matrizes | Agronômico | Morfológico | Molecular |
|----------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Agronômico | - | 0,54 ^{ns} | 0,82* |
| Morfológico | 0,54 ^{ns} | - | 0,55 ^{ns} |
| Molecular | 0,82* | 0,55 ^{ns} | - |

** *: significativo a 1% e 5% de probabilidade pelo teste t, respectivamente.

A partir dos resultados analisados conclui-se que os distintos marcadores foram eficientes na identificação de similaridade entre os acessos de gergelim (Tabela 7). Demonstrando que a caracterização do germoplasma avaliado apresentou maior variação por meio dos parâmetros agronômicos. Houve menor variabilidade entre os parâmetros morfológicos, contribuindo menos para a diferenciação entre os acessos. Dentre os marcadores morfoagronômicos avaliados, o número de frutos/planta se destacou nas análises em relação a sua variação, resultado também obtido por Arriel (2004).

Sendo assim, a correlação entre o marcador agronômico e molecular foi significativa, refletindo em uma maior semelhança gerada por estes tipos de marcadores (Tabela 7). O que poderia explicar este fato seria o melhor agrupamento entre os acessos mais precoces e que possuem o maior número de cápsulas por plantas em um mesmo grupo por meio da avaliação molecular. Os iniciadores que geraram maior polimorfismo foram ZM-22 e ZM-45 que conseguiram identificar os acessos mais divergentes por meio do padrão de amplificação das amostras BRA 31623 (Figura 3, amostras 7) e BRA 26093 (Figura 3, amostras 8). Esses acessos se destacaram pelas plantas com menor altura e os maiores valores do peso de mil sementes, características agronômicas importantes, estes fatos podem explicar a correlação existente entre os marcadores moleculares e agronômicos. Correlações positivas e significativas entre as medidas de variação genética de características quantitativas e marcadores moleculares foram verificadas em outros trabalhos e até mesmo em espécies diferentes como em Cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC, Myrtaceae) realizado por (AGUIAR et al. 2011).

Os dados morfológicos, agronômicos e moleculares, gerados neste estudo darão suporte para o programa de pesquisa da Embrapa Algodão que terá maior segurança na recomendação dos genótipos de gergelim para atender os diversos segmentos. As ferramentas moleculares, a exemplo dos marcadores SRR, poderão ser utilizadas para identificar acessos que possuem melhores características de interesse agrônomo, ampliando o leque de possibilidades de cruzamentos entre acessos de gergelim.

5. CONCLUSÕES

- Os marcadores morfoagronômicos e moleculares utilizados neste estudo foram eficientes para caracterizar a variabilidade genética entre acessos de gergelim oriundos do BAG da Embrapa Algodão;
- Entre os três marcadores utilizados para analisar a variabilidade entre os acessos destacam-se os marcadores agronômicos e os moleculares;
- A análise UPGMA foi considerada a mais efetiva para estudo dos acessos;
- Os acessos BAG 591 e BAG 649 foram identificados como os materiais mais precoces;
- Nos grupos 2, 3 e 4 foram reunidos os acessos mais similares enquanto os acessos mais divergentes foram agrupados no grupo 7, indicando possíveis genitores promissores para o Programa de Melhoramento genético da espécie.

REFERÊNCIAS

AESA. **Agência executiva de gestão das águas da Paraíba.** Disponível em: <<http://www.aesa.pb.gov.br/>>. Acesso em: 04 ago. 2015.

AGUIAR, A.V.; MOURA, N.F.; MOURA, M.F.; ZUCCHI, M.I.; VENCOVSKY, R.; CHAVES, L.J. RELAÇÃO ENTRE A VARIAÇÃO GENÉTICA DE CARACTERES QUANTITATIVOS E MARCADORES MOLECULARES EM SUBPOPULAÇÕES DE CAGAITEIRA (*Eugenia dysenterica* DC). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP, v. 33, n. 1, p. 157-169, 2011.

AKBAR, F.; RABBANI M. A.; SHINWARI, Z. K.; KHAN, S. J. Genetic divergence in sesame (*Sesamum indicum* L.) landraces based on qualitative and quantitative traits. **Pakistan Journal Botany**, v. 43, n. 6, p. 2737-2744, 2011.

ALEKCEVETCH, J.C., DE ARAÚJO CARNEIRO, F., DA SILVA RÊGO, É. C., GUERRA, A. F., BARTHOLO, G. F., FERRÃO, M. A. G., ANDRADE, A. C. (2013). **Estudo da diversidade genética de uma população de *Coffea canéfora* var. conilon por meio de marcadores moleculares do tipo SSR.** In Embrapa Café-Artigo em anais de congresso. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 8, 2013, Salvador. Sustentabilidade e inclusão Social. Brasília, DF: Embrapa Café.

ARRIEL, N. H. C.; FREIRE, E. C.; ANDRADE, F. P. Melhoramento genético. In: BELTRÃO, N. E. M.; VIEIRA, D. J. **O agronegócio do gergelim no Brasil.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Campina Grande: Embrapa Algodão, p. 247-284, 2001.

ARRIEL, N. H. C. **Diversidade genética em gergelim (*Sesamum indicum* L.) a partir de marcadores moleculares (RAPD) e caracteres morfológicos e agronômicos.** 2004. 114 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

ARRIEL, N.H.C.; DI MAURO, A.O.; DI MAURO, S.M.Z.; BAKKE, O.A.; UNÊDA-TREVISOLI, S.H.; COSTA, M.M.; CAPELOTO, A.; CORRADO, A.R. Técnicas multivariadas na determinação da diversidade genética em gergelim usando marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.801-809, 2006.

ARRIEL, N.H.C.; MAURO, A.O.D.; ARRIEL, E.F.; UNÊDA-TREVISOLI, S.H.; COSTA, M.M.; BÁRBARO, I.M.; MUNIZ, F.R.S. Genetic divergence in sesame based on morphological and agronomic traits. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.7, p.253-261, 2007.

ARRIEL, N.H.C.; SOUSA, S. L.; HEUERT, J.; MEDEIROS, A.A.; GONDIM, T.M.S.; FIRMINO, P.T.; VASCONCELOS, R. A.; DANTAS, E. S. B. **Gergelim BRS Anahí**, EMBRAPA-CNPA, Campina Grande, 2015. (Folder).

BEDIGIAN, D.; SMITH, C.A.; HARLAN, J.R. Patterns of morphological variation in *Sesamum indicum*. **Economic Botany**, v. 40, n.3, p.353-365, 1986.

BELTRÃO, N.E.M. Origem e história. In: BELTRÃO, N.E.M.; VIEIRA, D.J. **O Agronegócio do gergelim no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 17-20, 2001.

BELTRÃO, N.E.M.; FERREIRA, L.L.; QUEIROZ, N.L.; TAVARES, M.S.; ROCHA, M.S.; ALENCAR, R.D.; PORTO, V.C.N. **O gergelim e seu cultivo no semiárido brasileiro**. Natal: IFRN, p.225, 2013.

BHERING, L.L.; CRUZ, C.D.; LAVIOLA, B.G. **Biometria aplicada ao melhoramento de espécies alternativas para produção de biodiesel**. In: CARDOSO, D.L.; LUZ, L.N. da; PEREIRA, T.N.S. Estratégias em melhoramento de plantas. Arka, p.89-119, 2011.

BORÉM, A.; MIRANDA, G.V. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, p.529, 2009.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKOLMICK, M.; DAVIS, R. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, v.32, p.314-331, 1980.

BURGOS, N.; CAVALCANTI, A.C.; SILVA, F.H.B.B.; OLIVEIRA NETO, M.B. **Solos do Campo Experimental da Embrapa Algodão, em Patos-PB Levantamento Detalhado e Potencial Edáfico**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, p.112, 2002.

CASTRO, H.G.; SANTOS, G.R.; MOMENTÉ, V.G.; SILVA, D.J.H.; RIBEIRO JÚNIOR, J.I. Estudo da divergência genética por características morfológicas entre acessos de mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.) coletados no Estado do Tocantins em diferentes épocas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.1, p.24-29, 2011.

COUTINHO, T.C.; GUIMARAES, M.A; VIDAL, M.S. Determinação da diversidade genética entre acessos de algodão por meio de marcadores microssatélites = genetic diversity determination among accessions of cotton by microsatellites markers. **Bioscience Journal**, n.5, v.30, 2014.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, Imp. Univ., p. 390, 1994.

CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, v.2, p. 585, 2003.

CRUZ, C. D. **Programa GENES: análise multivariada e simulação**. Viçosa-MG, Ed. UFV, p. 175, 2006.

CRUZ, C. D. **Programa Genes - Diversidade Genética**. 1. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, v. 1, p. 278, 2008.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, ed.4, p. 514, 2012.

CRUZ, R.N.; AZEVEDO, C.A.V.; FERNANDES, J.D.; MONTEIRO FILHO, A.F. WANDERLEY, J.A.C. Adubação orgânica residual no crescimento e produção do gergelim irrigado com água residuária. **Revista Verde**, v. 8, n.1, p.257-263, 2013.

DELLAPORTA, S.L.; WOOD, J.; HICKS, J.B. A Plant DNA mini preparation: version II. **Plant Molecular Biology Reporter**, v.1, p.19-21, 1983.

DIAS, L.A. dos S. Análises multidimensionais. In: ALFENAS, A.C. (Ed.). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos**. Viçosa: UFV, p.405-475, 1998.

FERREIRA, J.P.; SCHMILDT, O.; SCHMILDT, E.R.; PIANTAVINHA, W.C.; CATTANEO, L.F. Correlações entre características morfoagronômicas de acessos de mamoeiro. **Enciclopédia Biosfera**, v.8, n.14, p. 246, 2012.

GIORGENON, C.H.B.; MAURO, A.O.D. Discriminação de linhagens F7 de soja com resistência à ferrugem asiática pela análise multivariada. **Ciência & Tecnologia: Fatec-JB, Jaboticabal**, v. 6, 2014.

GUICHOUX, E.; LAGACHE, L.; WAGNER, S.; CHAUMEIL, P.; LEGER, P.; LAPAIS, O.; LEPOITTEVIN, C.; MALAUSA, T.; REVARDEL, E.; SALIN, F.; PETIT, R.J. Current trends in microsatellite genotyping. **Molecular Ecology Resources**, v.11, n.4, p. 591-611, 2011.

HWANG, L.S. **Sesame oil**. In: Shahidi F (Ed.) *Bailey's Industrial Oil & Fat Products*. 6 th ed. New York, Wiley-Interscience, p.537-75, 2005.

JIAO, Y.; JIA, H.; LI, X.; CHAI, M.; JIA, H. Desenvolvimento de simples repetição de sequência (SSR) marcadores de uma pesquisa genoma de bayberry Chinês (*Myrica rubra*). **BMC Genomics**, v.13, p.201, 2012.

LAVIOLA, B.G.; BHERING, L.L.; MENDONÇA, S.; ROSADO, T.B.; ALBRECHT, J.C. Caracterização morfoagronômica do banco de germoplasma de pinhão manso na fase jovem. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 3, p. 371-379, 2011.

LUCENA, A.M.A.; CAVALCANTI, N.T.F.; FARIAS, A.L.; SANTOS, K.S.; ARRIEL, N.H.C.; ALBUQUERQUE, F.A. Qualidade de sementes de gergelim colhidas de frutos em diferentes estádios de maturação. **Scientia Plena**, v.9, n.6, 2013.

LUO, H.; WANG, X.; ZHAN, G.; WEI, G.; ZHOU, X.; ZHAO, J.; HUANG, L.; KANG, Z. Genome-Wide Analysis of Simple Sequence Repeats and Efficient Development of Polymorphic SSR Markers Based on Whole Genome Re-Sequencing of Multiple Isolates of the Wheat Stripe Rust Fungus. **Journal ListPLoS One**, v.10, p.6, 2015.

MANIVANNAN, N.; NADARAJAN, N. Genetic divergence in sesame. **Madras Agricultural Journal**, v.83, p.789-790, 1996.

MAZZANI, B. Euforbiáceas oleaginosas. Tártago. In: MAZZANI, B. **Cultivo y mejoramiento de plantas oleaginosas**. Caracas, Venezuela: Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias, p. 277-360, 1983.

MELO, W.M.C.; PINTO, R.G.V.; SANTOS, J.B.; FERREIRA, D.F. Utilização de caracteres morfoagronômicos e marcadores moleculares para avaliação da divergência genética entre híbridos de milho. **Revista Ceres**, v.48, n.276, p.195-207, 2015.

MOMOH, A.O.; ADEBOLU, T.T.; OGUNDARE A.O. The effects of different treatments on the phytochemicals, proximate, and mineral contents of beniseeds (*Sesamum indicum* L.). **Global Advanced Research Journal of Biotechnology**, v.1, n.1, p.8 -11, 2012.

MONTILLA, D.; MAZZANI, B.; CEDEÑO, T. **Mejoramiento genético del ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) reseña y logros en Venezuela**. In: IICA. VI Curso corto tecnología de la producción de ajonjolí. Acarigua, Venezuela, p. 1-67, 1990.

NAMIKI, M. Nutraceutical Functions of Sesame: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.47, p.651-673, 2007.

NOBRE, F. Hipertensão arterial sistêmica primária. **Revista de Medicina (Ribeirão Preto)**, v.46, n.3, p. 256-72, 2013.

OLIVEIRA, E. C.; CARVALHO, J. A.; REZENDE, F. C.; FREITAS, W. A. Viabilidade técnica e econômica da produção de ervilha (*Pisum sativum* L.) cultivada sob diferentes lâminas de irrigação. **Engenharia Agrícola**, v.31, p.324-33, 2011.

OLIVEIRA, M.V.C.; BALIZA, D.P.; SOUZA, G.A.; CARVALHO, S.P.; ASSIS, L.H.B. Caracterização de clones de mandioca utilizando marcadores microsatélites. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, p. 170-176, 2012.

PARQUE, J.H.; SURESH, S.; CHO, G.T.; CHOI, N.G.; JIN-BAEK, H.; LEE, C.W.; CHUNG, J.W. Assessment of molecular genetic diversity and population structure of sesame (*Sesamum indicum* L.) core collection accessions using simple sequence repeat markers. **Plant Genetic Resources**, v. 12, n. 01, p. 112-119, 2014.

PATHAK, N.; RAI, A.K.; KUMARI, R.; BHAT, K.V. Value addition in sesame: A perspective on bioactive components for enhancing utility and profitability. **Pharmacognosy Reviews**, v. 8, n.16, p.147-55, 2014.

PHAM, T.D.; GELETA, M.; BUI, T.M.; BUI, T.C.; MERKER, A.; CARLSSON, A.S. Comparative analysis of genetic diversity of sesame (*Sesamum indicum* L.) from Vietnam and Cambodia using agro-morphological and molecular markers. **Hereditas**, v. 148, n.1, p.28-35, 2011.

PINTO, S. M.; ARRIEL, N.H.C. Caracterização morfológica de progênies de gergelim de frutos indeiscentes. **Jornal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v.10, n. 01, p.88-96, 2014.

PUIATTI, G.A.; CECON, P.R.; NASCIMENTO, M.; NASCIMENTO, A.C.C.; FINGER, F.L.; PUIATTI, M.; SILVA, F.F.; SILVA, A.R. Comparação dos métodos de agrupamento de Tocher e UPGMA no estudo de divergência genética em acessos de alho. **Revista da Estatística UFOP**, v.3, 2014.

POMPELLI, M.F.; OROZCO, A.J.J.; OLIVIERA, M.T.; RODRIGUES, B.R.M.; BARBOSA, M.O.; SANTOS, M.G.; OLIVEIRA, A.F.M.; ALMEIDA-CORTEZ, J.S.; FONSECA-MORENO, L.P. Crise energética mundial e o papel do Brasil na problemática de biocombustíveis. **Agronomia Colombiana**, v.29, n.2, p. 423-433, 2011.

PRIORI, D.; BARBIERI RL; CASTRO, C.M.; OLIVEIRA, A.C.; VILELA, J.C.B.; MISTURA, C.C. Diversidade genética de *Cucurbita pepo*, *C. argyrosperma* e *C. ficifolia* empregando marcadores microssatélites. **Horticultura Brasileira**, v.31, p.361-368, 2013.

QUEIROGA, V.P.; BORBA, F.G.; ALMEIDA, K.V.; SOUSA, W.J.B.; JERÔNIMO, J.F.; QUEIROGA, D.A.N. Qualidade fisiológica e composição química das sementes de gergelim com distintas cores. **Revista Agro@mbiente**, v.4, n.1, p. 27-33, 2010.

QUEIROGA, V.P.; FIRMINO, P.T.; GONDIM, T.M.S.; SILVA, A.C.; VALLE, D.G.; QUEIROGA, D.A.N.; PE. GEREON, H.G.M. Soluções tecnológicas em prol da coletividade para sustentabilidade da cadeia produtiva do gergelim orgânico da agricultura familiar piauiense. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 13, n. 1, p. 97-111, 2011.

ROCHA, G.M.G. **Caracterização de genótipos do gergelim utilizando RAPD e microssatélite**. 42 f. (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Campina Grade, 2012.

SANT'ANA, G.C.; FERREIRA, J.L.; ROCHA, H.S.; BORÉM, A.; PASQUAL, M.; CANÇADO, G.M.A. Comparison of a retrotransposon-based marker with microsatellite markers for discriminating accessions of *Vitis vinifera*. **Genetics and Molecular Research**, v. 11, ed. 2, p. 1507-1525, 2012.

SANTOS, A.M.; DALL'AGNOL, M.; JANKE, A.; BORTOLINI, F.; HUBER, K.G.C. Análise da diversidade genética de cornichão com o uso de marcadores microssatélites. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 1188-1194, 2011.

SILVA, A. R. A.; BEZERRA, F. M. L.; SOUSA, C. C. M.; PEREIRA FILHO, J. V.; FREITAS, C. A. S. Desempenho de cultivares de girassol sob diferentes lâminas de irrigação no Vale do Curu, CE. **Revista Ciência Agronômica**, v.42, p.57-64, 2011.

SILVA, E.; OLIVEIRA, H.M.; ARAÚJO, L.N.C.; GUILHERME, M.F.S.; MARACAJÁ, P.B. Caracterização morfológica e qualidade fisiológica de cultivares de sementes de gergelim. *Revista Verde*, v.9, n. 3, p. 149 - 156, 2014.

SINGH, D.; UNREA, A.C. Inter and intraracial hibridization and selection for seed yield in early generations of common bean, *Phaseolus vulgaris* L. **Euphytica**, Wageningen, v.81, n.21, p.131-137, 1995.

SINGH, R.M.; SINGH, A K.; KUMAR, P. THAKRAL, N.K. Genetic divergence in sesame. **Annals of Biology Ludhiana**. v.13, n.1, p.41-45, 1997.

SOUZA, A.; RUSSO, L.; FERREIRA, D.S.P.; YADA, M.M.; JARDIM, C.A.; FRANCO, C.F. Desenvolvimento inicial de gergelim com adubação nitrogenada. **Ciência & Tecnologia: Fatec-JB**, v. 6, p. 6-10, 2014.

SRISAYAM, M.; WEERAPREEYAKUL N.; BARUSRUX S.; KANOKMEDHAKUL K. Antioxidant, antimelanogenic, and skin-protective effect of sesamol. **Journal of Cosmetic Science**, v. 65, n.2, p.69-79, 2014.

STOCCO, C.Q.F.; NICHEELE, F. Benefícios do Gergelim. **Revista Pense Leve**, p.1-5, 2012. Disponível em: <http://www.nutricaoesaudenatv.com.br/imagens/artigos/67.pdf>. Acessado em: 26 set. 2015.

SWAIN, D.; DIKSHIT, U.N. Genetic divergence in rabi sesame (*Sesamum indicum* L.). **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, v.57, n.3, p.296-300, 1997.

VILLELA, J.C.B.; BARBIERI, R.L.; CASTRO, C.M.; NEITZKE, R.S.; VASCONCELOS, C.S.; CARBONARI, T.; MISTURA, C.C.; PRIORI,

D. Caracterização molecular de variedades crioulas de pimentas (*Capsicum baccatum*) com marcadores microssatélites. **Horticultura Brasileira**, v.32, n.2, 2014.

ZHANG, H.; MIAO, H.; WANG, L.; QU, L.; LIU, H.; WANG, Q.; YUE, M. Genome sequencing of the important oilseed crop *Sesamum indicum* L. *Genome Biology*, v.14, 1- 401, 2013.

WANG, L.; HAN, X.; ZHANG, Y.; LI, D.; WEI, X.; DING, X.; ZHANG, X. Deep resequencing reveals allelic variation in *Sesamum indicum*. **BMC Plant Biology**, v.14, p. 225, 2014.

WEI, W.; QI, X.; WANG, L.; ZHANG, Y.; HUA, W.; LI, D.; LV, H.; ZHANG, X. Characterization of the sesame (*Sesamum indicum* L.) global transcriptome using Illumina paired-end sequencing and development of EST-SSR markers. **BMC Genomics**. v.19, p.12-451, 2011.

WEI, X.; WANG, L.; ZHANG, Y.; QI, X.; WANG, X.; DING, X.; ZHANG, J.; XIURONG, Z. Development of Simple Sequence Repeat (SSR) Markers of Sesame (*Sesamum indicum*) from a Genome Survey. **Molecules**, v.19, n.4, p.5150-5162, 2014.

WEISS, E.A. **Oilseed crops**. London: Longman, p.659, 1983.

WHFOODS. **Sesame seeds**. Disponível em:

<<http://www.whfoods.com/genpage.php?tname=foodspice&dbid=84>>. Acesso em: 02 ago. 2015.

WOLDESENBET, D.T.; TESFAYE, K.; BEKELE, E. Genetic diversity of sesame germplasm collection (*Sesamum indicum* L.): implication for conservation, improvement and use. **Biotechnology and Molecular Biology Research**, v.6, n.2, p. 7-18, 2015.

WU, K.; YANG, M.; LIU, H.; TAO, Y.; MEI, J.; ZHAO, Y. Genetic analysis and molecular characterization of Chinese sesame (*Sesamum indicum* L.) cultivars using

Insertion-Deletion (InDel) and Simple Sequence Repeat (SSR) markers. **BMC Genetics**, v. 15, n. 35, 2014.