

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
AGRICULTURA E AMBIENTE**

**INDUÇÃO DE VARIABILIDADE GENÉTICA APLICADA
AO MELHORAMENTO DE BRAQUIÁRIA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Diego Nicolau Follmann

Frederico Westphalen, RS, Brasil

2014

INDUÇÃO DE VARIABILIDADE GENÉTICA APLICADA AO MELHORAMENTO DE BRAQUIÁRIA

Diego Nicolau Follmann

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do programa de Pós-Graduação em Agronomia - Agricultura e Ambiente, Área de concentração Ambiente na Produção Agrícola da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Agronomia.**

Orientador: Prof. Dr. Velci Queiróz de Souza

Frederico Westphalen, RS, Brasil

2014

Follmann, Diego Nicolau, 1988 -
Indução de variabilidade genética aplicada ao melhoramento de
braquiária /
Diego Nicolau Follmann. – 2014.
67 f.; 30cm

Orientador: Velci Queiróz de Souza
Co-orientadores: Denise Schmidt; Braulio Otomar Caron
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria
campus Frederico Westphalen, Programa de Pós-Graduação em
Agronomia - Agricultura e Ambiente, RS, 2014.

1. Melhoramento genético 2. *Brachiaria brizantha* 3. Biometria I.
Souza, Velci Queiróz de II. Caron, Braulio Otomar III. Cocco, Carine IV.
Indução de variabilidade genética aplicada ao melhoramento de braquiária.

© 2014

Todos os direitos autorais reservados a Diego Nicolau Follmann. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte “o autor”.

Endereço eletrônico: diegonicolaufollmann@gmail.com

**Universidade Federal de Santa Maria
Programa de Pós-graduação em Agronomia
Agricultura e Ambiente**

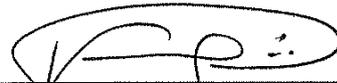
A comissão examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**INDUÇÃO DE VARIABILIDADE GENÉTICA
APLICADA AO MELHORAMENTO DE BRAQUIÁRIA**

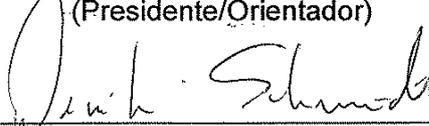
elaborado por
Diego Nicolau Follmann

Como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Agronomia

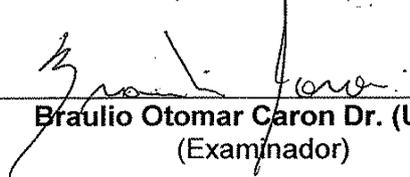
COMISSÃO ORGANIZADORA



Vêni Queiróz de Souza, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)



Denise Schmidt, Dr. (UFSM)
(Coorientador)



Bráulio Otomar Caron Dr. (UFSM)
(Examinador)



Carine Cocco Dr. (UFPEl)
(Examinador)

Frederico Westphalen, 21 de julho de 2014.

DEDICATÓRIA

Ao meus pais Adelar e Dilva Follmann pela paciência,
Apoio, incentivo, perseverança junto a expectativas
sob a minha formação pessoal e profissional...

DEDICO...

AGRADECIMENTOS

Primeiramente ao criador do universo, por permitir minha existência nesse planeta perfeito, agradecendo a Deus pela saúde e amigos que me destes durante essa jornada.

Aos meus pais Adelar Joaquim Follmann e Dilva Follmann, por todo o apoio, incentivo, junto para com meu crescimento pessoal e profissional, vocês são mais do que colaboradores, são parte íntegra e sólida de todas as conquistas que já alcancei. Agradeço pelo amor que me ofereceram e principalmente pelo exemplo de perseverança.

Ao meu grande mestre orientador pesquisador melhorista Dr. Velci Queiróz de Souza, que não só mostra o caminho mas sim torna-se um exemplo a ser seguido. Como profissional que cumpre com seus deveres, num meio onde muito se reclama e pouco se faz. Obrigado pela oportunidade de convivência por todos esses anos e que continue essa amizade e parceria, seja sempre essa pessoa “tipo tranquilo” no sentido de eficiência e caráter.

A minha namorada Leila, por todo amor, atenção, companheirismo e compreensão, você tem muito desta conquista.

A minha irmã Andrise, por tudo que representa pra mim, te amo.

Aos meus amigos irmãos, melhoristas, Maicon Nardino e Ivan Ricardo Carvalho, por todo apoio, confiança em meu trabalho, ficam meus singelos agradecimentos.

Aos meus amigos e colegas de laboratório Daniela, Carine, David dentre outros que de alguma maneira contribuíram na realização dos trabalhos, ficam meus sinceros agradecimentos, espero que possam ter aprendido algo comigo assim como aprendi com vocês.

A Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade de ensino e pesquisa.

Ao programa de Pós Graduação em Agronomia-Agricultura e Ambiente e todos os quais fazem parte do mesmo, obrigado pela oportunidade.

A FAPERGS pela concessão de bolsa de pesquisa, fundamental para o mesmo.

A todos que de alguma maneira acreditam em meu trabalho. Fica um grande abraço.

“Num país jovem, como o nosso, estamos,
provavelmente, muito longe de possuir
todas as plantas cultiváveis em nosso país...
Para encontrá-las necessitaremos de um
grande número de experiências que falharão.
Porém se fizermos, pelo menos, uma aquisição
de sucesso, ela pagara nosso trabalho.”

Thomas Jefferson

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós Graduação em Agronomia - Agricultura e Ambiente
Universidade Federal de Santa Maria

INDUÇÃO DE VARIABILIDADE GENÉTICA APLICADA AO MELHORAMENTO DE BRAQUIÁRIA

AUTOR: DIEGO NICOLAU FOLLMANN
ORIENTADOR: VELCI QUEIRÓZ DE SOUZA

DATA E LOCAL DA DEFESA: Frederico Westphalen, RS 21 de julho de 2013.

A aplicação e adequação de técnicas de pré-seleção para identificar indivíduos com caracteres de interesse possui elevada importância junto a programas de melhoramento genético, assim como o ganho de seleção nas populações estudadas. Em populações que sobreviveram a pré-seleção e seleção do ambiente, o estudo da dissimilaridade nos genótipos é de elevada importância, buscando identificar e selecionar indivíduos superiores. O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da indução de mutação química com o surgimento da variabilidade genética em genótipos apomíticos de *Brachiaria brizantha*, com aplicação de pré-seleção para tolerância ao frio calculando-se o ganho de seleção estimado dentro e entre populações, também proceder de estudos relativos a dissimilaridade dos indivíduos mutantes e comerciais, após passarem por seleção ambiental em dois anos de cultivo. O trabalho foi realizado, no município de Frederico Westphalen-RS, junto ao Laboratório de Melhoramento Genético e Produção de Plantas, UFSM. O estudo foi realizado com uma população de genótipos obtidos por indução química de Metil Metano Sulfonado a 0,5% em 50.000 sementes de genótipos comerciais, após embebição do agente mutagênico iniciaram processo de germinação e desenvolvimento em baixas temperaturas, as quais em sequência transplantados em condições de campo para exposição a seleção, em função das condições edafoclimáticas presentes no clima em questão. Sobreviventes aos crivos seletivos formaram população de 35 indivíduos, que foram coletadas as sementes em seus descendentes para estudos nas gerações M2 e M3. Em condições de câmara controlada aplicou-se pré-seleção dos indivíduos nos níveis de frio a 1 °C, 0 °C, -1 °C, -2 °C e -3 °C e os mesmos em associações a -5°C para verificar a resposta dos genótipos, calculando-se o ganho de seleção estimado dentro e entre população. Procedeu-se do estudo da dissimilaridade genética dos acessos em função de 21 variáveis através da distância euclidiana média para verificação da variabilidade genética gerada após indução de mutação química e seleção do meio sobre os genótipos. A pré-seleção pode ser induzidas para selecionar indivíduos com pré-disposição a tolerância em todos os níveis de frio, entretanto o ganho de seleção foi maior nos níveis de frio 0 °C e -1 °C em associação a frio extremo, assim entre populações a geração M2 teve maior ganho de seleção que a geração M3 em função da maior seleção presente. Houve elevada dissimilaridade entre genótipos estudados, dos 38 indivíduos estudados formou-se 18 grupos. Dos 35 genótipos mutantes, apenas um agrupou conjuntamente com as três testemunhas comerciais, indicando que a mutação induziu os genótipos a maior aclimação para crescimento em baixas temperaturas e produção de inflorescências.

Palavras chave: Geadas. Mutação química. Pré-seleção. Seleção. Adaptação.

ABSTRACT

Master Dissertation
Graduate Program in Agronomy - Agriculture and Environment
Federal University of Santa Maria

INDUCTION OF GENETIC VARIABILITY APPLIED TO *BRACHIARIA* BREEDING

AUTHOR: DIEGO NICOLAU FOLLMANN
ADVISOR: VELCI QUEIROZ DE SOUZA
Frederico Westphalen, RS, July 21, 2014.

The application and adaptation of pre-selection techniques to select individuals with traits of interest is of high importance with the breeding programs, as well as the gain selection in the populations studied. In populations that survived the pre-selection and middle selection, study the dissimilarities in genotypes is of high importance in order to identify and select superior individuals. The aim of this work is to study the effect of chemical induction of mutation with respect to the emergence of genetic variability in apomictic *Brachiaria Brizantha* genotypes, with the applying pre-selection for cold tolerance by calculating the estimated gain of selection within and among populations, also to behave studies on the dissimilarity of the mutants and commercial subjects after passing the scrutiny of environmental selection in two years of cultivation. The study was conducted in the city of Frederico Westphalen-RS, at the Laboratory of Genetic Breeding and Plant Production, UFSM. The study was behaved in a population of genotypes formed after chemical induction of Methyl Methane Sulfonate 0.5% in 50.000 seeds of commercial genotypes, that after soaking mutagen initiated germination and development process at low temperatures, which result in transplanted to field conditions for exposure selection, depending on the environmental conditions present in the environment in question. Survivors to scrutiny selective formed population of 35 individuals, which seeds were collected in his descendants for studies in M2 and M3 generations. Under conditions of controlled chamber was applied pre-selection of individual levels of cold 1 ° C, 0 ° C, -1 ° C and -2 ° C and 3 ° C in the same associations at -5 ° C to verify the response of genotypes, calculating the estimated gain selection within and among populations. Proceeded to study the genetic dissimilarity of accesses according to 21 variables by averaging Euclidian distance to verify genetic variability generated after chemical induction of mutation and selection of the medium on the genotypes. The pre-selection may be induced to select individuals with predisposition to tolerance at all levels of cold, however the selection gain was higher in the levels of cold 0 ° C and -1 ° C in association with extreme cold, so among populations the M2 generation had greater gain selection to the M3 generation due to higher this selection. There was high dissimilarity among genotypes studied, the 38 subjects studied was formed 18 groups. Of the 35 mutant genotypes, only one clustered together with the three commercial witness, indicating that the mutation induced genotypes better adaptation to growth at low temperatures and inflorescence production.

Key-words: Frosts. Chemical. Mutation. Preselection. Adaptation.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Dendrograma formado pela método de agrupamento UPGMA, a partir da distância euclédiana média, representando a dissimilaridade entre 35 acesso de *Brachiaria brizantha* e as cultivares comerciais *B. brizantha* MG-5, *B. brizantha* Piatã, *B. brizantha* Marandu, formados à partir de 21 caracteres morfológicos conduzido em condições de campo em clima sub-tropical, estudados durante dois anos de cultivo, Frederico Westphalen, 2014.....53
- Figura 2 - Crescimento linear de genótipos de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) expresso em centímetros, com medidas referentes da semeadura ao florescimento pleno, Frederico Westphalen-RS, 2014.....57
- Figura 3 - Crescimento linear de genótipos de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) expresso em centímetros, com medidas referentes do rebrote ao florescimento pleno, Frederico Westphalen-RS, 2014.....58
- Figura 4 - Surgimento de inflorescências de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) expresso em unidades por parcela de avaliação, com medidas semanais expressas do rebrote ao florescimento pleno, Frederico Westphalen-RS, 2014.....60

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

- Tabela 1 - Comparação entre testemunha x controle, para a variável tolerância ao frio em mutantes da geração M2 e M3 em relação a testemunhas comerciais de *Brachiaria brizantha*, para o nível de 1°C e associação a -5°C, Frederico Westphalen-RS, 2014..... 36
- Tabela 2 - Comparação entre testemunha x controle, para a variável tolerância ao frio em mutantes da geração M2 e M3 em relação a testemunhas comerciais de *Brachiaria brizantha*, para o nível de 0°C e associação a -5°C, Frederico Westphalen-RS, 2014..... 37
- Tabela 3 - Comparação entre testemunha x controle, para a variável tolerância ao frio em mutantes da geração M2 e M3 em relação a testemunhas comerciais de *Brachiaria brizantha*, para o nível de -1°C e associação a -5°C, Frederico Westphalen-RS, 2014..... 38
- Tabela 4 - Comparação entre testemunha x controle, para a variável tolerância ao frio em mutantes da geração M2 e M3 em relação a testemunhas comerciais de *Brachiaria brizantha*, para o nível de -2°C e associação a -5°C, Frederico Westphalen-RS, 2014..... 40
- Tabela 5 - Comparação entre testemunha x controle, para a variável tolerância ao frio em mutantes da geração M2 e M3 em relação a testemunhas comerciais de *Brachiaria brizantha*, para o nível de -3°C e associação a -5°C, Frederico Westphalen-RS, 2014..... 41
- Tabela 6 - Comportamento de genótipos dentro da população em função dos níveis de frio, para ganho de seleção estimado, para NF (níveis de frio) e N.F. + Ass. -5°C (níveis de frio associado a frio extremos de -5°C) em genótipos oriundos de indução química de mutação em função de testemunhas comerciais de *Brachiaria brizantha*, Frederico Westphalen-RS, 2014..... 42
- Tabela 7 - Comportamento de genótipos entre população de 4000 indivíduos em função dos níveis de frio, para ganho de seleção estimado, para NF (níveis de frio) e N.F. + Ass. -5°C (níveis de frio associado a frio extremos de -5°C) em genótipos oriundos de indução química de mutação em função de testemunhas comerciais de *Brachiaria brizantha*, Frederico Westphalen-RS, 2014..... 43
- Tabela 8 - Valores referentes a atributos químicos do solo de semeadura do experimento Frederico Westphalen-RS, 2014..... 50
- Tabela 9 - Valores referentes a contribuição relativa dos caracteres para divergência de singh, com 21 caracteres morfológicos em estudo, referente a população formado por indivíduos mutantes em geração M2, testemunhas *Brachiaria brizantha* MG-5, *Brachiaria brizantha* BRS Piatã, *Brachiaria brizantha* Marandu, em dois anos de estudo, Frederico Westphalen, 2014..... 56

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	12
1.2 Objetivos.....	13
1.2.1 Objetivos geral	13
1.2.2 Objetivos específicos	14
CAPÍTULO I	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1 Histórico e origem da <i>Brachiaria</i>	15
2.1.1 Descrição botânica da braquiária	16
2.1.2 Características morfológicas da braquiária.....	17
2.2 Melhoramento de braquiária	17
2.2.1 Apomixia e o cultivo braquiária	19
2.3 Tolerância ao frio	20
2.4 Mecanismos para resistência a baixas temperaturas	21
2.5 Indução de mutação.....	22
2.6 Testes de pré-seleção e seleção aplicada	23
2.7 Análise da dissimilaridade genética e ganho de seleção.....	24
2.8 Referências bibliográficas.....	25
CAPÍTULO II	
3 GANHO DE SELEÇÃO PARA TOLERÂNCIA AO FRIO, DENTRO E ENTRE POPULAÇÕES MUTANTES DE BRAQUIÁRIA	29
3.1 Introdução	30
3.2 Material e métodos.....	32
3.3 Resultados e discussões	35
3.4 Conclusões.....	43
3.5 Referências bibliográficas.....	44
CAPÍTULO III	
4 VARIABILIDADE E ACLIMATAÇÃO DE MUTANTES DE BRAQUIÁRIA.....	46
4.1 Introdução	48
4.2 Material e métodos.....	50
4.3 Resultados e discussões	52
4.4 Conclusão.....	62
4.5 Referências bibliográficas.....	62
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	66

1 INTRODUÇÃO GERAL

A partir da década de 1960 as espécies de braquiária proporcionaram uma verdadeira revolução agrostológica na pecuária nacional. Atualmente a área de cultivo é superior a 90 milhões de hectares, equivalente a três vezes maior que a área cultivada de soja, e com valores de comercialização de sementes que equiparam ao mercado de sementes de milho (KARIA et al., 2006).

A busca por genótipos aclimatados ao ambiente, com potencial produtivo que atenda a demanda regional, e foco em produção de alimentos de baixo custo ao rebanho, é uma busca constante por parte de programas de melhoramento e pecuaristas. A introdução de pastagens cultivadas perenes, caracterizadas por tolerância ao frio e rápido rebrote após a ocorrência de geadas, seria uma alternativa para diminuir o vazio forrageiro, causado pela ausência de forragem junto às pastagens naturais em alguns períodos de outono e inverno no Rio Grande do Sul (SIMIONI et al., 1999).

O gênero *Brachiaria* constitui a mais importante forrageira dos trópicos, desempenhando importante papel na produção de carne e leite no Brasil, além de viabilizar a pecuária em solos fracos e ácidos (ARAÚJO et al., 2008)

Atualmente esta disponível no mercado brasileiro maior número de cultivares de *B. brizantha*, além de pesquisas voltadas a espécie de *B. ruziziensis*, as quais são destinadas à integração lavoura-pecuária e à adição de massa seca ao sistema de semeadura direta em regiões do centro-oeste brasileiro (SILVA et al., 2013).

A *B. brizantha* é cultivada a mais de 30 anos em climas tropicais e subtropicais em diversas regiões do mundo, entretanto possui maior expressão e área de cultivo em regiões tropicais nas Américas. Dentre as cultivares em destaque, têm-se a BRS Piatã e a BRS Xaraés, que aumentam sua área de cultivo frente ao monocultivo da braquiaria cultivar Marandu (VIGNA et al., 2011).

O melhoramento genético encontra dificuldade para aumentar a variabilidade presente em espécies do gênero *Brachiaria*. Grande parte dos genótipos lançados até o momento no mercado brasileiro deve-se a seleção por variabilidade natural, em função de barreiras encontradas como a apomixia presente e diferentes níveis de ploidia (RESENDE et al., 2008).

Para formação de um programa de melhoramento deve-se formar um banco de germoplasma com variabilidade. Estudos desenvolvidos por Muller (1927) com o intuito de aumentar a variabilidade genética por meio de indução de mutação química são trabalhos considerados pioneiros.

A indução química de variabilidade genética é a única forma dos melhoristas não serem reféns das mutações que ocorrem na natureza (ALLARD, 1971). A indução de mutação caracteriza-se por promover alterações em sequências de DNA, levando a um aumento de variabilidade dentro de uma população (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Programas de melhoramento que visam desenvolver cultivares adaptadas a regiões sub-tropicais devem partir da seleção de genótipos que se caracterizam pela produção de novas folhas e pelo crescimento em baixas temperaturas (LUDLOW, 1980). Também é importante uma elevada capacidade de afilhamento, com destaque aos afilhos axilares (SOUZA et al., 2013). Além de modificações, estruturais, fisiológicas e bioquímicas, encontradas a nível celular (ALCÁZAR et al., 2011).

A aplicação de técnicas de melhoramento como pré-seleção, estudo da dissimilaridade, ganho de seleção estimado dentro e entre populações e estudo dos genótipos em condições de campo, são ferramentas que podem vir a auxiliar na seleção de indivíduos superiores. Com os programas de melhoramento conduzidos nas condições mais próximas possíveis que as cultivares irão encontrar após seu lançamento (RAMALHO et al., 2012).

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivos geral

Selecionar genótipos de braquiária adaptados às condições sub-tropicais da região noroeste do estado do Rio Grande do Sul.

1.2.2 Objetivos específicos

Encontrar metodologia adequada para avaliar o efeito da simulação de frio como pré-seleção em população formada por mutantes de *Brachiaria brizantha*, com avaliações na geração M2 e M3 em comparação a testemunhas comerciais.

Avaliar os efeitos dos diferentes níveis de frio para tolerância ao frio dos genótipos estudados, bem como a influência dos diferentes níveis em associação ao ganho de seleção estimado dentro e entre populações.

Avaliar a variabilidade genética dos indivíduos mutantes sobreviventes à seleções aplicadas na população, auxiliado pelo estudo da dissimilaridade genética, verificando o desenvolvimento dos melhores indivíduos em comparação as testemunhas comerciais.

CAPÍTULO I

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Histórico e origem do gênero *Brachiaria*

O gênero *Brachiaria* pertence a tribo Paniceae, compreendendo mais de 100 espécies de regiões tropicais e sub-tropicais. As mesmas são encontradas em maior número no continente africano, com acessos que habitam de várzeas inundadas a savanas. Sua introdução nas Américas data de 1952, com as principais espécies de importância econômica: *Brachiaria arrecta*, *B. brizantha*, *B. decumbens*, *B. dictyoneura*, *B. humidicola*, *B. mutica* e *B. ruziziensis* (VALLE et al., 2009).

A utilização das espécies de *Brachiaria* em sistemas de pastoreio ocorre por pecuaristas locais a milênios, porém a semeadura e cultivo com gerenciamento prévio teve início somente a partir de 1960 (ADAMOWSKI et al, 2008). O cultivo por semeadura teve início em escala limitada com área úmida e litorânea na Austrália tropical, logo após África do Sul e, em 1970, no Brasil (MILES et al., 1996).

De acordo com Miles et al., (1996), a grande expansão do cultivo no Brasil ocorreu em função das espécies de *Brachiaria* apresentarem boa aclimação a áreas anteriormente subutilizadas, isso ocorreu pelo fato das espécies implantadas serem tolerantes a solos de baixa fertilidade, chegando a ocupar aproximadamente 85% das pastagens cultivadas no Brasil.

No início da década de 1960, foi introduzido pelo *International Research Institute* a cultivar australiana “Basilisk” no interior de São Paulo. Esta foi considerada a primeira cultivar de *Brachiaria* cultivada em larga escala no Brasil. A ótima adaptação desse genótipo, conhecido popularmente como “braquiarinha”, despertou o interesse de grandes projetos subsidiados pelo governo na década de 1970 (KARIA et al., 2006).

Devido a grande demanda existente por diversificação de pastagens tropicais, o Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) liderou, entre 1984 e 1985,

viagens de coleta no leste africano, local considerado o centro de origem *Brachiaria* spp. (RESENDE et al., 2008). Ação que proporcionou a formação do terceiro maior banco de germoplasma do mundo, com 430 acessos junto a Embrapa em Campo Grande - MS, ficando atrás do ILCA na Etiópia com 520 acesso e CIAT na Colômbia com 687 acesso (MILLES et al., 1996).

As duas espécies com maior área de cultivo são *B. decumbens* cv. Basilisk e *B. brizantha* cv. Marandu, tanto no Brasil quanto nos outros países que cultivam braquiária em sua base pecuária (ADAMOWSKI et al., 2008). O monocultivo causa aumento na mortalidade das plantas em função de fatores bióticos e abióticos, com destaque para a *B. brizantha* a qual ocupa aproximadamente 60% da área de cultivo (GUARDA e GUARDA, 2014).

2.1.1 Descrição botânica da braquiária

B. brizantha (Hochst. ex. A. Rich) Stapf. pertence a família Poaceae, pode vir a ser encontrada em diversas regiões do mundo. Esta espécie apresenta fruto do tipo cariopse (SILVA e FERRARI, 2012), com sementes que possuem elevados níveis de dormência momentos após a colheita (DIAS e ALVES, 2008).

De acordo com Resende et al., (2008), dos 275 acessos estudados junto ao banco de germoplasma brasileiro de *B. brizantha*, a maior parte dos acessos apresentaram apomixia do tipo Panicum, geralmente facultativa, com flores que ocasionalmente apresentam sacos meióticos passíveis de fecundação e sistema reprodutivo tido como alógamas (VALLE et al., 2009).

Estudos com diplóides férteis, encontrados no acesso brasileiro BRA-002747, afirmam que os baixos níveis de formação de sementes não estão ligados a anomalias florais, estruturas dos gametas ou rejeição do tubo polínico, mas provavelmente relacionada à depressão endogâmica (ARAUJO et al., 2007).

Em exames microscópicos para identificação de sacos meióticos, os mesmos foram encontrados em 30 a 40 ovários examinados, entretanto dificilmente as progênes são encontradas em condições de campo. Isso ocorre possivelmente pelo fato de os genótipos apomíticos serem mais adaptados e pelo fato dos sacos

coexistirem no mesmo ovário, com os sacos apospóricos desenvolvendo-se mais rapidamente que os meióticos (RESENDE et al., 2008).

2.1.2 Características morfológicas da braquiária

A *B. brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) é uma espécie perene, cespitosa, caracterizada pela sua rusticidade e plasticidade, apresentando sobrevivência a geadas (MACHADO, 2010). Sua morfologia condiz com rizomas curtos, colmos eretos e pouco ramificados com 4 a 6 nós presentes, não emitindo raízes adventícias junto aos nós, folhas de glabras a pubescentes, com lâminas foliares agudas com 5 a 30 cm de comprimento e 0,6 a 1,6 cm de largura. Quando totalmente desenvolvida, tem o hábito de formação de touceiras, atingindo dimensões de dois metros de altura, possuindo boa tolerância a condições de secas como frias (BRITO e RODELLA, 2002).

Não existe chave adequada para classificação de espécies de *Brachiaria*, entretanto podemos citar características eficientes para isso, como a forma do contorno da espiguetas, a forma tridimensional da espiguetas, o comprimento relativo da gluma inferior, a forma da gluma inferior, o número de racemos e a forma da ráquis (MILES et al., 1998). Para discriminação de *Brachiaria brizantha* em relação a outras espécies os caracteres reprodutivos foram os mais eficientes (ASSIS et al., 2003).

2.2 Melhoramento de braquiária

A cultura da braquiaria agregou acréscimo produtivo para a pecuária brasileira, levando o Brasil a posição de maior produtor, consumidor e exportador de sementes do gênero (DIAS e ALVES 2008).

O melhorista de plantas tem como base de seu trabalho a variabilidade genética, buscando genótipos que apresentem características de interesse que superam as médias. Entretanto, entre os crivos seletivos que as populações estão

sujeitas, a seleção não cria variabilidade genética, somente atua na variabilidade existente (ALLARD, 1971).

Para geração de variabilidade os programas de melhoramento encontram dificuldades com a presença de apomixia e os diferentes níveis de ploidia presentes nos acessos. Atualmente, programas de melhoramento brasileiros buscam identificar genótipos diplóides de reprodução sexual, a fim de induzir cruzamentos com indivíduos apomíticos, gerando variabilidade e selecionando-se indivíduos apomíticos para lançamento de cultivares (RESENDE et al., 2008).

Os dois maiores programas de melhoramento genético de braquiária nos trópicos pertencem ao CIAT e à Embrapa. Com pesquisas voltadas a produção de híbridos gerados de material de *B. ruziziensis*, cujos cromossomos foram duplicados na Bélgica na década de 1980 e do acesso BRA-002747, cujos cromossomos foram duplicados nos anos 2000, após as plantas tornarem-se tetraplóides e confirmação de serem sexuais e férteis (KARIA et al., 2006).

No início do estudo de indução de poliploidia, acreditava-se em uma verdadeira revolução, visto que indivíduos gerados apresentariam maiores números de cromossomos e produziram maiores órgãos vegetativos, com adaptação ao ambiente. No entanto observações em condições de campo, identificaram que o desempenho dos genótipos modificados pode vir a ser inferior a indivíduos com menor número de ploidia, justificável pelo longo período de adaptação na escala evolutiva para sua conformação genética (WITTMANN e DALL'AGNOL, 2003).

Para o melhoramento de braquiária com as características combinadas em nova cultivar, é interessante proceder cruzamentos artificiais entre indivíduos apomíticos e plantas sexuais. Entretanto para viabilizar esses cruzamentos é necessário a uniformização da ploidia dos genitores, podendo ser obtida pela haploidização de tetraplóides ou duplicação de diplóides (PEREIRA et al., 2012).

Atualmente os programas de melhoramento trabalham com genótipos sexuais para introduzir em novas cultivares genes de resistência a determinado insetos ou doenças. Após, cruza-se com genótipos elite apomíticos e seleciona-se na segregação indivíduos que incorporaram as características de interesse associadas a comportamento apomítico (RESENDE et al., 2008).

A indução de variabilidade genética através da indução química pode vir a ser uma alternativa viável para fixar nos genótipos características de interesse. Com base na afirmação de que os genótipos apomíticos de *B. brizantha* podem

apresentar menor variabilidade genética que muitas espécies autógamas (AMBIEL et al., 2008). De acordo com trabalho desenvolvido por Coimbra et al., (2004), gerou-se variabilidade genética para caracteres de interesse na cultura da aveia com indução química e física de agente mutagênico.

Em relação ao registro de novas cultivares as mesmas devem distinguir-se das cultivares registradas e comercializadas, por mínimo número de descritores, além de características inerentes a homogeneidade e estabilidade (BRASIL, 2011). Demonstrando qualidades que atendam as exigências dos critérios mínimos que o mercado exige (BORÉM e MIRANDA, 2009).

2.2.1 Apomixia e o cultivo braquiária

A palavra apomixia vem do idioma grego, que significa “sem mistura”, em referência ao embrião ser produzido sem a fusão dos gametas femininos e masculinos, com a progênie descrita como um clone da planta mãe. Assim tem-se o embrião resultante do desenvolvimento autônomo da oosfera (KARIA et al., 2006).

A apomixia pode ocorrer através de gemas vegetativas, bulbilhos e proliferação no lugar de flores ou inflorescências, podendo vir a ser definida como a reprodução vegetativa que substitui o método sexual (STEBBINS, 1941). Em braquiária a apomixia é tida como facultativa, proporcionando que algumas flores reproduzam-se sexualmente, entretanto em baixas frequências (VALLE et al., 2009).

A maior parte das plantas superiores apresentam reprodução sexual com união dos gametas através do processo de meiose e fertilização, gerando recombinação gênica e variabilidade genética. Entretanto, em algumas espécies de plantas esse processo não ocorre para a formação das sementes e sim um processo assexual denominado apomixia, formando indivíduos idênticos a planta mãe (CRUZ et al., 1998).

As plantas apomíticas não necessitam de polinização para formar sementes viáveis, porém pode ocorrer apomixia e reprodução sexual simultaneamente num mesmo óvulo ou planta. As espécies da família Poaceae são apomíticas facultativas, podendo combinar apomixia e reprodução sexual (ASKER, 1979).

O processo de apomixia gera sementes as quais contêm embriões puramente maternos, originados por uma “fuga” da redução meiótica e pela formação do embrião na ausência de fertilização. No entanto o processo pode utilizar-se do quadro de desenvolvimento existente para a produção sexual, com os dois tipos de processos existindo simultaneamente em óvulos (KOLTUNOW, 1993).

Nos acessos de *Brachiaria* poliplóides o saco embrionário é do tipo *Panicum* com origem apospórica e meioticamente não reduzido. Já em acessos sexuais diplóides, o saco embrionário formado é do tipo *Polygonum*. Entretanto, as plantas apomíticas apresentam saco embrionário apospórico e apomítico, caracterizando-se como apomixia facultativa (ARAUJO et al., 2004).

Segundo Asker (1979), dentre as vantagens da apomixia, tem-se a de não ocorrer problemas relativos a distúrbios meióticos, como a poliploidia com formação de triploides, além da fixação da homozigose independente da geração a qual seleciona-se, com os indivíduos sendo idênticos a planta mãe, não ocorrendo recombinação.

A ausência total ou parcial da recombinação gênica e a baixa variabilidade são os principais entraves para o melhoramento de espécies apomíticas. Contudo, a variabilidade pode ser induzida via cruzamento entre espécies apomíticas e não apomíticas desde que apresentem paridade genética com relação a ploidia, podendo também realizar-se indução de mutação ou seleção de mutações espontâneas que ocorrem na natureza (CRUZ et al., 1998).

2.3 Tolerância ao frio

A região sul do Brasil, apresenta microrregiões onde as temperaturas médias mínimas ficam próximas aos 6 °C. As geadas ocorrem com frequência nos meses de inverno, com intensidade e período de ocorrência variável (SOUZA et al., 2013). Geada consiste na deposição de gelo em objetos expostos durante a noite, onde o desequilíbrio entre soluções extracelular e intracelular proporcionam desidratação da ruptura da membrana plasmática (PEREIRA et al., 2002).

O estágio de maior susceptibilidade das plantas ao frio é o de plântula, com o vigor das mesmas e a velocidade de crescimento podendo ser considerado um

mecanismos de escape. O maior número de afilhos com destaque aos afilhos axilares também são estruturas de adaptação das plantas (SOUZA et al., 2013).

A resistência ao frio, geralmente é associada à quantidade de dano foliar e a sobrevivência das plantas em condições de campo. Em gramíneas tropicais, por exemplo, a baixa aclimatação pode estar associado com a incapacidade de produção de novas folhas nessas condições (LUDLOW, 1980).

O fenótipo é influenciado por características genéticas associadas à pressão ambiental. Deste modo, a expressão gênica pode estar associada a atribuição de genes específicos que são induzidos apenas em algumas células e momentos, se houver estímulo para o mesmo (RAMALHO et al., 2012).

Para tolerância ao frio, a melhor forma de verificação do efeito sobre os genótipos é a associação das espécies forrageiras em condições de campo. Segundo Allard (1971), as populações estão sujeitas à seleção ambiental que favorecem indivíduos mais adaptados, com maior capacidade de deixar descendentes, proporcionando ganho de seleção para as características de interesse.

2.4 Mecanismos para resistência a baixas temperaturas

A aclimatação de plantas consistem em mecanismos que as mesmas desenvolvem para adaptação as condições ambientais. Tanto o ambiente quanto o genótipo exercem papel fundamental na expressão fenotípica, com os programas de melhoramento devendo ser conduzidos nas condições mais próximas que os descendentes irão encontrar, de modo a apresentarem maiores chances de sucesso (RAMALHO et al., 2012).

A resistência ao frio pode estar associada a modificações de estruturas ao nível celular, mecanismos bioquímicos e fisiológicos, os quais podem vir a condizer com a acumulação de açúcares solúveis e aminoácidos (ALCÁZAR et al., 2011).

Temperaturas baixas alteram as propriedades físicas dos lipídios, levando a um aumento na rigidez da membrana, com a ativação de genes específicos. A sinalização de baixas temperaturas é regulada através de íons cálcio, ácido abscísico, proteínas específicas, cinases e fosfatases (TAIZ e ZEIGER, 2013).

As espécies tropicais apresentam tolerância ao frio moderada, em função da limitada capacidade de endurecimento das paredes celulares. Pequenas diferenças, de aproximadamente 0,5 °C podem ser decisivas na morte ou sobrevivência dos tecidos (LUDLOW, 1980).

2.5 Indução de mutação

A origem da variabilidade genética são as mutações, as quais correspondem a mudanças herdáveis, servindo de matéria prima para o melhoramento genético e a evolução, elas agem junto ao nucleotídeos dos genes provocando alterações herdáveis junto aos mesmo, dando origem na maioria das vezes a um novo fenótipo (RAMALHO et al., 2012).

As mutações ocorrem espontaneamente na natureza, sendo consideradas o principal fator responsável pela modificação e evolução dos genótipos. Contudo as mutações em condições naturais ocorrem em uma baixa frequência. Deste modo, a indução de mutação pode ser considerada uma ferramenta para aumentar as chances de encontrar genótipos com mutações de interesse. De acordo com Allard (1971), a indução de mutações é a única forma dos melhoristas de plantas não dependerem somente da natureza.

Em trabalho desenvolvido por Coimbra et al., (2004) com indução de mutação física e química em aveia, os agentes mutagênicos físico (raios gama-⁶⁰Co) e químicos (etilmetanossulfonato-EMS), nas dosagens 100 Gy e 0,5 %, respectivamente, revelaram maiores graus de divergência genética.

No começo do século passado tornou-se consenso entre os cientistas a existência e a importância das mutações para a evolução das plantas. Estudos posteriores foram realizados para a indução artificial de mutações, com o intuito de acelerar o processo, agregando características desejáveis as plantas (MULLER, 1927).

As mutações podem ser classificadas como mutações de substituição de bases, silenciosas, sentido errado, sem sentido, adição ou deleção de bases (RAMALHO et al., 2012). Quando induzidas, as mesmas não são controladas, podendo ocorrer em qualquer parte do germoplasma. As principais mutações

relatadas junto a literatura, correspondem a alterações em características facilmente mensuráveis, tais como mutações a nível de cloroplastos, caráter anão ou gigante, tamanho ou forma de inflorescências, tipos precoce ou tardio. Enquanto que com baixa herdabilidade, como tolerância ao calor e frio, são pouco publicados (ALLARD, 1971).

2.6 Testes de pré-seleção

Com a aplicação de pré-seleção em população inicial, identifica-se indivíduos com possível tolerância à característica de interesse e, principalmente, elimina-se os indivíduos com grande suscetibilidade. O estágio de plântula é o mais sensível a baixas temperaturas (SOUZA et al., 2013).

Segundo Oliveira et al., (2013), é de extrema importância que o desenvolvimento de novas cultivares em um programa de melhoramento genético para tolerância a determinado estresse abiótico seja realizado com rapidez e eficiência. Dentre as vantagens da utilização de seleção artificial está a certeza da presença do evento que proporcionara o estresse, o qual pode não ocorrer durante determinado período de avaliação ou não ocorrer repetibilidade do mesmo, como a ocorrência de geadas.

A *Brachiaria* spp. apresenta-se com estrutura reprodutiva de planta alógamas, mas em função da apomixia pode expressar-se com maior homozigose do que algumas plantas autógamas (AMBIEL et al., 2008). A seleção em plantas de braquiaria apomíticas pode ser efetuada em qualquer geração, pois os indivíduos apresentam elevada homozigose por serem clones da planta mãe (RESENDE et al., 2008).

De acordo com Allard (1971) no melhoramento de plantas autógamas, a seleção deve ocorrer apenas na quinta geração após o cruzamento artificial de dois pais. Deste modo, mantém-se a maior variabilidade possível e aumentam as chances de encontrar genótipos de interesse.

Em braquiárias apomíticas utilizar a pré-seleção em fase inicial pode ser considerada uma técnica eficaz, com a qual o melhorista pode diminuir esforços humanos e financeiros, além de poder conduzir populações de igual tamanho com

maiores chances de sucesso. O melhoramento de plantas, deve ser aprimorado para realização de procedimentos cada vez mais rápidos, com menores custos e elevada eficiência (BORÉM e MIRANDA, 2009).

A pré-seleção pode ser um mecanismo de grande interesse para os programas de melhoramento, pois eliminam os indivíduos mais suscetíveis, porém não substitui o melhoramento nas condições ambientais. Selecionar plantas forrageiras com crescimento em baixas temperatura, traz benefícios como a tolerância à geada (LUDLOW, 1980).

2.7 Análise da dissimilaridade genética e ganho de seleção

A diversidade genética e o nível de diferenciação existente entre populações são essenciais para definição dos estoques genéticos, apresentando-se em associação com a capacidade natural das mesmas em responder a mudanças climáticas associadas a estresses bióticos e abióticos (CRUZ, 2005).

Uma maneira de medir a variabilidade de uma população em relação a um caráter qualquer é através da utilização da variância. Deste modo, as diferenças genéticas são representadas pela variância genética, e o efeito do ambiente mais a segregação e recombinação dos genes representam a variância fenotípica (CARVALHO et al., 2001).

A braquiárias possuem estrutura reprodutiva de espécies alógamas (VALLE et al., 2009), porém devido a presença da apomixia, as mesmas caracterizam-se por maior homozigose que espécies autógammas (AMBIEL, 2008). Em clones homozigotos podemos calcular o ganho de seleção estimado através do estudo da variância genotípica e da variância fenotípica (VENCOVSKY e BARRIGA, 1992).

Em uma população, a realização da seleção ou descarte dos genótipos é facilmente procedido, quando existem grandes diferenças na expressão fenotípica. Há maiores chances de escolha de bons genótipos se a expressão fenotípica for confiável e condizente com os valores genotípicos (CRUZ, 2005).

A análise de agrupamento tem por finalidade reunir critérios de classificação, de tal modo que haja elevada homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre grupos, segundo critérios de similaridade ou dissimilaridade. Desta maneira,

procura-se identificar combinações híbridas com elevada heterozigose, com possibilidade de recuperação de genótipos superiores (CRUZ et al., 2004).

2.8 Referências bibliográficas

ADAMOWSKI E. V.; PAGLIARINI M. S.; VALLE C. B. Meiotic behavior in three interspecific three-way hybrids between *Brachiaria ruziziensis* and *B. brizantha* (Poaceae: Paniceae). **Journal of Genetics**, Bangalore, v. 87, p. 33-38, 2008.

ALCÁZAR, R.; CUEVAS, J. C.; PLANAS, J.; ZARZA, X.; BORTOLOTTI, C.; CARRASCO, P.; SALINAS, J.; TIBURCIO, A. F.; ALTABELLA, T. Integration of polyamines in the cold acclimation response. **Plant Science**, Charlotte, v.180, p. 31-38, 2011.

ALLARD, R. W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 1971. 485 p.

AMBIEL, A. C.; GUABERTO, L. M.; VANDERLEI, T.M.; NETO, N.B.M. Agrupamento de acessos e cultivares de três espécies de *Brachiaria* por RAPD. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 4, p. 457-464, 2008.

ARAUJO, A. C. G. ; FALCAO, R. ; SIMOES, K. C. R. ; CARNEIRO, V. T. C. . **Identificação de acessos de *Brachiaria* com interesses ao estudo da apomixia facultativa**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos, 2004, 29 p.

ARAUJO, A. C. G. ; FALCÃO, R. ; CARNEIRO, V. T. de C. Seed Abortion in the sexual counterpart of *Brachiaria brizantha* apomicts (Poaceae). **Sexual Plant Reproduction**, New York, v. 20, p. 109-121, 2007.

ASKER, S. Progress in apomixis research. **Hereditas, Lund**, v. 91, p. 231-240, 1979.

ASSIS, G. M. L. da; EUCLYDES, R. F.; CRUZ, C. D.; VALLE, C. B. do. Discriminação de espécies de *Brachiaria* baseada em diferentes grupos de caracteres Morfológicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 3, p. 576-584, 2003.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. Editora UFV: Viçosa MG. 5ªed., 2009, 529p.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Proteção de cultivares no Brasil**. Universidade Federal de Viçosa. Brasília, 2011, 202p.

BRITO, C. J. F. A.; RODELLA, R. A. Caracterização morfo-anatômica da folha e do caule de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf e *B. humidicola* (Rendle) Schweick. (Poaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 221-228, 2002.

CARVALHO, F. I. F. de; SILVA, S. A.; KUREK, A. J.; MARCHIORO, V. S. **Estimativas e implicações da herdabilidade como estratégia de seleção**. Pelotas: UFPel. Ed 1, Universitária, 2001. 99p.

COIMBRA, J.L.M.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C. Genetic variability in populations of oat induced by chemical and physical mutagenic agents. **Crop Breeding And Applied Biotechnology**, Viçosa, v.4, p.48-56, 2004.

CRUZ R. P. da; FEDERIZZI L. C.; MILACH S. C. K. A apomixia no melhoramento de plantas. **Ciência rural**, Santa Maria, v. 28, n. 1, p. 155-161, 1998.

CRUZ, C. D., **Princípios da genética quantitativa**. Editora UFV: Viçosa 1º ed. 2005, 394 p.

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

DIAS, M.C.L.L.; ALVES, S.J. Avaliação da viabilidade de sementes de *Brachiaria brizantha* (Hochst. Ex A. Rich) Stapf pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.30, n.3, p.145-151, 2008.

GUARDA, V. Del'A. and GUARDA, R. Del'A. Brazilian Tropical Grassland Ecosystems: Distribution and Research Advances. **American Journal of Plant Sciences**, v. 5, p. 924-932, 2014.

KARIA, C. T.; DUARTE, J. B.; ARAÚJO, A. C. G. de. **Desenvolvimento de cultivares do gênero *Brachiaria* (trin.) Griseb. no Brasil**. Embrapa. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2006, 58p.

KOLTUNOW, A. M. Apomixis: embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. **The plant cell**, Baltimore, v. 5, p. 1425-1437, 1993.

LUDLOW, M. M. Stress physiology of tropical pasture plants. **Tropical Grassland**, Cali, v. 14, n. 3, p.136-145, 1980.

RAMALHO, A. P. R.; SANTOS, J. B. dos; PINTO, C. A. B. P.; SOUZA, E. A. de; GONÇALVES, F. M. A.; SOUZA, J. C. de. **Genética na agropecuária**. 5 ed., Lavras: UFLA, 2012, 566 p.

MACHADO L. A. Z.; ASSIS P. G. G. de; Produção de palha e forragem por espécies anuais e perenes em sucessão à soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, n. 4, p. 415-422, 2010.

MILES J. W., MAASS B. L. and VALLE C. B. **Brachiaria: Biology, Agronomy, and Improvement**. CIAT/Embrapa. Cali: 1996. 288 p.

MULLER, H.J. Artificial transmutation of the gene. **Science**. Austin, v. 66, p. 84–87, 1927.

OLIVEIRA K. M. B. de; CHIARI L.; BARRIOS S. C. de L.; LAURA V. A. Avaliação de híbridos intraespecíficos de *Brachiaria decumbens* Stapf (Poaceae) para tolerância ao Alumínio. **I workshop sobre Tolerância a Estresses Abióticos**. Embrapa, Campo Grande-MS, 2013. Disponível em <<http://www.cnpqc.embrapa.br/publicacoes/doc/DOC199.PDF>>. Acesso em 15 de jun. 2014.

PEREIRA, A. R.; ANGELOCCI, L. R.; SENTELHAS, P. C. **Agrometeorologia: fundamentos e aplicações práticas**. Guaíba: Agropecuária, 2002, 478p.

PEREIRA, R. C., DAVIDE, L. C.; TECHIO, V. H. Duplicação cromossômica de gramíneas forrageiras: uma alternativa para programas de melhoramento genético. **Ciência Rural**, Santa Maria. v. 42, n. 7, p. 1278-1285, 2012.

RESENDE, R. M. S.; VALLE, C. B. do; JANK, L. **Melhoramento de forrageiras tropicais**. EMBRAPA: Campo Grande-MS, 1.ed. 293p. 2008.

SIMIONI, C.; PAIM, N. R., WITTMANN, M. T. S. Tolerância ao frio e caracterização de híbridos entre *Leucaena leucocephala* e *L. diversifolia*. **Ciência rural**, Santa Maria, v. 29, n. 3, p. 453-458, 1999.

SILVA W. B.; PETTER F. A.; LIMA L. B. de; ANDRADE F. R. Desenvolvimento inicial de *Urochloa ruziziensis* e desempenho agrônômico da soja em diferentes arranjos espaciais no cerrado Mato-Grossense. **Bragantia**, Campinas, v. 72, n. 2, p.146-153, 2013.

SOUZA F. H. D. de; MATTA F. de P; FÁVERO A. P. **Construção de ideótipos de gramíneas para usos diversos**. Brasília, DF: EMBRAPA, 381 p., 2013.

STEBBINS, G. L. Apomixis in the angiosperms. **Botanical review**, Oakland, v. 7, n.10, 507-542p. 1941.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954p.

VALLE, C. B. do; JANK, L.; RESENDE, R. M. S. O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 56, n. 4, p.460-472, 2009.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Sociedade Brasileira de genética, 1992, 496p.

VIGNA B. B. Z. ; JUNGSMANN L. ; FRANCISCO P. M. ; ZUCCHI M. I. ; VALLE C. B. ; SOUZA A. P. Genetic Diversity and Population Structure of the *Brachiaria brizantha* Germplasm. **Tropical Plant Biology**, v. 3, p. 1-13, 2011.

WITTMANN, M. T. S.; DALL'AGNOL, M.; Indução de poliploidia no melhoramento de plantas. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 9, n.1-2, p. 155-164, 2003.

CAPÍTULO II

3 GANHO DE SELEÇÃO PARA TOLERÂNCIA AO FRIO, DENTRO E ENTRE POPULAÇÕES MUTANTES DE BRAQUIÁRIA

RESUMO: A pecuária brasileira é destaque mundial, considerada uma das principais atividades econômicas do Brasil. Entretanto a área de pastagens teve avanço considerável com a introdução de espécies de *Brachiaria*, proporcionando nas décadas posteriores uma revolução agrostológica para o setor. Dentre os problemas enfrentados o baixo número de cultivares, que ocupam grandes extensões de cultivo, e a dificuldade de lançamento de novos genótipos em função da apomixia presente na maior parte do banco de germoplasma. Os objetivos do trabalho, visam elucidar a avaliação da população de mutantes de *Brachiaria brizantha* submetidas à pré-seleção artificial de diferentes níveis de frio, em comparação entre indivíduos de geração M2 e M3 e avaliações condizentes a variabilidade genética presente dentro e entre as populações. As avaliações foram realizadas em 4000 indivíduos, selecionados manualmente para identificação de indivíduos com endosperma totalmente formado, dentre os quais oriundos e correspondentes a população M1, M2 e testemunhas *Brachiaria brizantha* BRS Piatã, *Brachiaria brizantha* Marandu. Foi realizada a pré-seleção dos indivíduos em diferentes níveis de frio a 1°C, 0°C, -1°C, -2°C e -3°C e os mesmos em associações a -5°C para verificar a resposta dos genótipos a pré-seleção ao frio. Procedeu-se o ganho de seleção estimado dentre e entre população dos genótipos. A indução de mutação química, gerou variabilidade genética para indivíduos de *Brachiaria brizantha*, o maior ganho de seleção foi encontrado para nível de frio em 0°C, em associação para o nível -1°C, dentro da população a associação com o frio extremo, proporcionou maior ganho de seleção estimado, entre população a geração M3 revelou menores valores que a M2.

Palavras chave: Variabilidade; apomixia, ploidia; adaptação, melhoramento.

GAIN OF SELECTION FOR COLD TOLERANCE, AMONG AND BETWEEN MUTANT POPULATIONS OF BRACHIARIA

ABSTRACT: The Brazilian livestock is global prominence, considered one of the main economic activities of Brazil. However the area of pastures had considerable advance with the introduction of *Brachiaria* species, providing in later decades one agrostológica revolution for the sector. Among the problems facing the low number of cultivars, that occupy large tracts of farming, and the difficulty of launching new genotypes according to the present apomixis most of the germplasm bank. The objectives aim to elucidate the population estimate of mutants *Brachiaria brizantha* submitted to artificial pre-selection of different levels of cold, in compared between individuals of generation M2 and M3 and consistent reviews the genetic variability among and between the populations. The evaluations were conducted in 4000 individuals, manually selected for identifying individuals with endosperm fully formed, among whom come and corresponding to M1, M2 and witnesses *Brachiaria brizantha* BRS Piata, *Brachiaria brizantha* Marandu population. The pre-selection of individuals was performed at different levels of cold 1 ° C, 0 ° C, -1 ° C and -2 ° C and 3 ° C in the same associations at -5 ° C to verify response of genotypes to preset the cold. Proceeded to gain selection estimated among and between populations of genotypes. The chemical induction of mutation generated genetic variability for individuals *Brachiaria brizantha*, the largest selection gain was found for level of cold 0 ° C, in association to level -1 ° C, among the population the association with extreme cold, the major gain selection estimated between population generation M3 showed lower values than M2.

Keywords: Variability. Apomixis. Ploidy. Adaptation. Improvement.

3.1 Introdução

O Brasil é destaque mundial na criação de bovinos de corte, apresenta constante desenvolvimento e crescimento do setor produtivo, com condições edafoclimáticas favoráveis ao desenvolvimento das pastagens, principal fonte alimentar para a bovinocultura de corte e leite (SILVA et al., 2013). Variações na produção e qualidade das forrageiras destacam-se como os principais limitadores na produtividade do rebanho bovino brasileiro (MARANHÃO et. al., 2010).

Buscam-se nos programas de melhoramento de espécies forrageiras, desenvolver genótipos com elevada adaptação, produção e rusticidade, com características de fácil adaptação as adversidades climáticas e ambientais,

relacionadas ao cultivo. A introdução do gênero *Brachiaria* nas Américas aconteceu a partir de 1952, as principais espécies com importância econômica do gênero encontradas nas Américas são: *B. arrecta*; *B. brizantha*; *B. decumbens*; *B. dictyoneura*; *B. humidicola*; *B. muticae* e *B. ruziziensis* com origem do leste da África (VALLE et al., 2009).

As espécies de braquiária são cultivadas em todo território nacional, entretanto apesar de serem recomendados cultivos em regiões tropicais, comumente são encontradas em pastagens na região sul, motivado pela busca dos produtores por espécies forrageiras que apresentam fácil adaptação e manejo. Um dos problemas enfrentados nesses cultivos é a ocorrência de geadas, as quais impedem o crescimento e produção de fitomassa durante o período de inverno. Destacando-se que as espécies do gênero apresentam grande capacidade de adaptação a várias condições edafoclimáticas (COSTA et al., 2007).

As cultivares de *B. brizantha* são predominantemente tetraplóides e apomíticas, trazendo baixa variabilidade para o gênero (ASSIS et al., 2003). Dentre estudos procedidos em Campo Grande junto ao banco de germoplasma brasileiro pode corroborar com essa afirmação, num universo de estudo correspondente a 222 acessos de *B. brizantha*, as amostras de indivíduos com nível de ploidia de $2n$, $3n$, $4n$, $5n$ e $6n$, com 70% dos acessos serem correspondentes a indivíduos tetraplóides. Com relação ao modo de reprodução, de 275 acessos estudados apenas um expressou-se com reprodução sexual, o restante corresponde a predominância da apomixia para a espécie (RESENDE et al., 2008).

Modificações morfológicas como hábito de crescimento, presença de tricomas estão relacionados à capacidade de aclimatação das espécies, entretanto o aumento da tolerância ao frio e à geadas expressam dependência das condições climáticas que as plantas foram submetidas em período anterior, com o estágio de maior susceptibilidade ao frio correspondente ao de plântulas (SOUZA et al., 2013). Entretanto a tolerância ao frio pode estar associada a modificações estruturais, fisiológicas e bioquímica a nível celular expressa pelo acúmulo de açúcares solúveis e aminoácidos (ALCÁZAR et al., 2011), atividade enzimática, proteínas anti congelamento e mudança para com a composição lipídica do indivíduo (WANG et al., 2006).

Nas primeiras décadas do século XX a sociedade científica verificou a ocorrência de mutações naturais, as quais procedem modificações ao DNA das

plantas. Em trabalhos desenvolvidos Muller (1927), iniciou estudos com mutações induzidas para aumentar as frequências de mutações, objetivando buscar o aprimoramento de características desejáveis as plantas. Alguns anos após Allard (1971) afirma que as mutações induzidas são a única esperança dos melhoristas de plantas para livrar-se da dependência unicamente da natureza e acelerar o processo de ampliação da variabilidade genética..

As variações ocorrem no decorrer do tempo por mutações, às quais ocorrem em frequências muito baixas na natureza. A utilização do agente mutagênico MMS (Metil Metano Sulfonado) é uma técnica empregada em espécies agrônômicas para aumentar a variabilidade dentro de uma mesma população. Os indivíduos que se encontram com alterações específicas na sua sequência de DNA são denominados mutantes (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Neste trabalho, foi proposta uma metodologia para avaliar o efeito da simulação de diferentes níveis de frio, em população de mutantes de *Brachiaria brizantha* com avaliações na geração M2 e M3 em comparação a testemunhas comerciais. Avaliando-se a variabilidade dos efeitos da pré-seleção para tolerância ao frio, a influência dos diferentes níveis e associações de frio sob as respostas a tolerância e o ganho de seleção estimado dentro e entre populações, para as gerações de mutantes em comparação as cultivares comerciais.

3.2 Material e métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Melhoramento Genético e Produção de Plantas na Universidade Federal de Santa Maria, Frederico Westphalen – RS nas coordenadas 27°23'26" latitude sul, 53°25'43" longitude oeste e altitude de 461,3 metros. O solo é classificado como Latossolo Alumínio Férrico, clima descrito por Köppen como do tipo 3, ou seja, subtropical úmido, com precipitação média anual de 2.100 mm.

Utilizaram-se 50 mil sementes da testemunha comercial *B. brizantha* cv. Marandu adquirida em estabelecimento comercial no comércio de Campo Grande-MS, para indução de agente mutagênico Metil Metano Sulfonado (MMS) os quais procedeu-se da indução na concentração de 0,5% conforme metodologia utilizadas

por Coimbra et al., (2004), na dosagem a qual o mesmo encontrou maior variabilidade genética para a cultura da aveia.

Posteriormente após a indução das sementes e início da germinação procedeu-se da seleção a baixa temperatura a 0°C, procedendo-se da seleção de plântulas normais e com tolerância ao frio para formação de uma população com variabilidade para seleção de novos indivíduos tolerantes ao frio. Dando origem a população segregante M0, a qual foi semeada em condições de campo com posterior colheita para avanço de gerações.

Com o avanço de gerações, foi procedida a avaliação em sementes coletadas na geração M1 e M2, coletando-se um “bulk” de sementes disponíveis para a mesma nas gerações de estudo. Após procedendo-se de homogeneização das sementes para avaliar o quanto de seleção pode ser atribuído a indução química da variabilidade no avanço das gerações, verificando-se também o comportamento dos diferentes níveis de frio, na seleção artificial de genótipos tolerantes.

As sementes coletadas nessas gerações, geraram indivíduos correspondentes a plântulas em geração M2 e M3, induzindo-se nos mesmos a pré-seleção por diferentes níveis de frio simulado, para verificação do comportamento dos genótipos frente à tolerância ao frio. Procedeu-se o estudo em cinco diferentes níveis de frio, 1° C, 0° C, -1° C, -2° C e -3° C, e após indução ao frio extremo de -5° C para todos os tratamentos.

Procedeu-se da utilização de 4000 indivíduos dentre os quais oriundos e correspondentes a população M1 (1000), M2 (1000) e testemunhas comerciais BRS Piatã (1000), Marandu (1000), devidamente selecionadas nas mesmas condições de amostragem, para fazer-se presente o princípio da casualização. Para cada nível de frio estudado procedeu-se da utilização de 200 sementes, totalizando 80 unidades experimentais compostas de 50 sementes cada.

O planejamento experimental condiz com a utilização de sementes colhidas na população M1 e M2 do banco de germoplasma do Laboratório de Melhoramento Genético e Produção de Plantas, as quais colhidas respectivamente no ano de 2012/2013, com pré-seleção aplicada em condições de laboratório a partir do dia 07/05/2013.

Para condução do experimento foram utilizadas caixas UHT de área de 1000 cm², as quais devidamente esterilizadas com imersão em hipoclorito de sódio na concentração de 2% por período de meia hora, após esterilização com álcool na

concentração de 70%. O substrato para instalação do experimento foi composto por 50% do volume de substrato comercial com especificações de pH com 6,5 e densidade de massa de 500 kg m³, com os 50% do volume restante condizente a solo coletado em horizonte superficial de 20 cm em lavoura comercial, compreendido como um Latossolo Alumínio Férrico.

Após a mistura e alocação do substrato nas unidades experimentais, procedeu-se da saturação do mesmo com água destilada até o mesmo atingir a capacidade de campo, procedendo-se da perfuração das caixas para drenagem do excesso de água. Com semeadura de 50 sementes selecionadas por unidade experimental.

As sementes utilizadas foram avaliadas individualmente, procedendo-se o fornecimento de pressão manual individualmente por sementes, com o intuito de proceder seleção em indivíduos com endosperma totalmente cheio, proporcionando maior padronização para qualidade das sementes. Para superação da dormência procedeu-se da superação química da mesma com a utilização de nitrato de potássio na concentração de 0,2% (BRASIL, 2009).

Conforme metodologia de avaliação aplicada para seleção de indivíduos superiores, a mesma favoreceu em condições de “bulk” selecionar indivíduos que sobreviveram à pressão de seleção ambiental, correspondendo às condições edafoclimáticas, mais precisamente à formação de geadas, juntamente com essa característica selecionando-se em maior proporção indivíduos que apresentam maior capacidade de produção de sementes e sementes com endosperma completamente desenvolvido, aplicando-se essas características na população de indivíduos com o avanço de gerações para identificação dos superiores.

Após a semeadura as unidades experimentais foram conduzidas em câmara de germinação controlada, procedendo-se casualização diária para diminuição dos fatores de interferência, as temperaturas foram utilizadas de maneira alternada de 35 °C por um período diurno de 8 horas e 20 °C por um período noturno de 16 horas (BRASIL, 2009), até o sétimo dia, para favorecer a superação de dormência das sementes.

Após procedeu-se da estabilidade da temperatura a 20 °C até o 21º D.A.S. (dias após semeadura), realizando a contagem da emergência e submeteu-se as plântulas aos diferentes tratamentos de associações em níveis de frio. Ao 26º D.A.S. realizou-se a contagem para verificar o efeito dos diferentes níveis de frio no

percentual de sobrevivência aos diferentes tratamentos. Após mensuração procedeu-se do procedimento de submeter todos os tratamentos a choque final de frio de -5°C , os quais associam-se aos diferentes tratamentos, procedendo-se da contagem de plantas sobreviventes ao 31° D.A.S.

Os dados analisados condizem ao índice de sobrevivência dos indivíduos, após os níveis de frio empregados com contagem no 26° D.A.S. e níveis de frio extremo associado para todos os tratamentos, no 31° D.A.S. de avaliação, em relação à germinação final aos 21 D.A.S. Expresso pela fórmula:

$$\bar{I}S = \frac{26 \text{ DAS}}{21 \text{ DAS}} \quad \bar{I}S = \frac{31 \text{ DAS}}{21 \text{ DAS}}$$

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos de Federer, considerando cada indivíduo com interesse para o estudo como único e sem repetição. Com a constatação de diferenças mínimas significativas mutantes vs testemunha, passaram-se as análises complementares. Foram realizadas as análises de ganho de seleção dos mutantes avaliando a variabilidade presente e a influência da seleção ambiental, do melhorista e mutações sobre a população.

O ganho de seleção estimado foi expresso pela fórmula:

$$\text{GSE} = h \cdot s^2 \cdot i$$

Com GSE correspondente ao ganho de seleção estimado, h = herdabilidade, s^2G = variância genética, i = índice de seleção correspondente a 0,1 para todos os tratamentos.

Os dados foram submetidos a análise de variação pelo teste f , conforme modelo proposto por Federer, considerando-se as testemunhas como fixas, procedendo-se a comparação da variância das testemunhas vs mutantes através da diferença mínima significativa para cada nível de frio.

3.3 Resultados e discussões

A análise de variação revelou efeito significativo para nível de frio de 1°C em associação a -5°C para efeito de repetições e teste x controles, para a temperatura ao nível de -1°C ocorreu efeito para controles, em -2°C com associação a -5°C

houve efeito significativo para tratamentos, testes e testes x controles, para o nível - 3°C ocorreu efeito significativo para repetições.

De acordo com a tabela 1, para a comparação entre testemunhas em relação a indivíduos mutantes em geração M2 e M3, para avaliação de tolerância ao frio ao nível de 1°C e o mesmo em associação ao frio de -5°C, houve diferenças entre os genótipos mutantes em relação a testemunhas comerciais.

Tabela 1: Análise de variância e comparação pela diferença mínima significativa, em estudo com blocos aumentados entre testemunha x controle, para a variável tolerância ao frio em mutantes da geração M2 e M3 em relação a testemunhas comerciais de *Brachiaria brizantha*, para o nível de 1 °C e associação a -5 °C, Frederico Westphalen-RS, 2014.

Genótipos	Temperatura de exposição			
	1°C	(1 °C + -5 °C)	1°C	(1 °C + -5 °C)
1-BRS Piatã	-	-	0,640628	0,2014815
2-Marandu	0,51388875	0,1555555	-	-
3-M2	0,98243088*	0,6017095*	0,98243088*	0,6017095*
4-M2	0,75114738*	0,6374075*	0,75114738	0,6374075*
5-M2	1*	0,2239735	1*	0,2239735
6-M2	0,58202087	0,3689945*	0,58202087	0,3689945*
7-M3	0,98243088*	0,2555555*	0,98243088*	0,2555555
8-M3	0,87614738*	0,1731215	0,87614738	0,1731215
9-M3	1*	0,3035185*	1*	0,3035185*
10-M3	0,46513687	0,4512455*	0,46513687	0,4512455*

*Diferença mínima significativa de 0,2343, 0,0717, 0,2343, 0,0717 da esquerda em direção à direita respectivamente entre testemunhas e mutantes.

Para a geração M2 a cultivar BRS Piatã expressou-se com 50% dos indivíduos com diferença mínima significativa a 1° C, a mesma cultivar em associação ao frio extremo expressou 75 % de inferioridade para tolerância ao frio, em relação aos mutantes avaliados. Para a mesma geração os genótipos estudados expressaram-se com 75% de diferença e superioridade para os índices níveis de frio 1°C e o mesmo associado ao frio extremo -5°C.

Na geração M3 a 1°C a cultivar BRS Piatã expressou-se com 50% de inferioridade para a relação com nível de frio, mantendo a mesma proporção de indivíduos com diferença mínima significativa na associação ao frio de -5°C, a

cultivar Marandu expressou-se com índice de 75% para as duas avaliações de temperaturas baixas, expressando-se com maior diferença mínima significativa que a cultivar BRS Piatã em ambas as aferições, expressando que para esse nível de temperatura e geração de estudo a expressão de indivíduos tolerantes ao frio na cultivar Marandu foi menor.

A expressão fenotípica é dependente do genótipo associado ao ambiente (RAMALHO et al., 2012). A utilização da variância é usual para a mensuração da variabilidade que ocorre em uma população em relação a um caráter, entretanto a diferença genética existente entre os indivíduos expressa-se em função da variância genética, a variância fenotípica corresponde ao efeito do ambiente mais a recombinação dos genes (CARVALHO et al., 2001).

A tabela 2 expressa resposta de genótipos de braquiaria submetidos à temperatura de 0°C e o mesmo em associação a -5°C, ocorrendo diferença entre mutantes e testemunhas.

Tabela 2: Análise de variância e comparação pela diferença mínima significativa, em estudo com blocos aumentados entre testemunha x controle, para a variável tolerância ao frio em mutantes da geração M2 e M3 em relação a testemunhas comerciais de *Brachiaria brizantha*, para o nível de 0°C e associação a -5°C, Frederico Westphalen-RS, 2014.

Genótipos	Temperatura de exposição			
	0°C	(0°C + -5°C)	0°C	(0°C + -5°C)
1- BRS Piatã	-	-	0,5359063	0,16055718
2-Marandu	0,39360119	0,04166667	-	-
3-M2	0,56265584	0,08071566	0,56265584	0,08071566
4-M2	0,71566949*	0,06555474	0,71566949	0,06555474
5-M2	0,67567924*	0,08843911	0,67567924	0,08843911
6-M2	1*	0,64846041*	1*	0,64846041*
7-M3	0,50111738	0,0731305	0,50111738	0,0731305
8-M3	0,16951565	0,06555474	0,16951565	0,06555474
9-M3	0,96139353*	0,38605816*	0,96139353*	0,38605816*
10-M3	1*	0,08596041	1*	0,08596041

*Diferença mínima significativa de 0,2791, 0,1327, 0,2791, 0,1327 da esquerda em direção à direita respectivamente entre testemunhas e mutantes.

Na geração M2 na comparação entre mutantes e a testemunha BRS Piatã, para resposta relativa ao fator níveis de frio os mutantes expressaram-se 25 % superiores, na comparação com a cultivar Marandu os mutantes expressaram-se

com 75% de superioridade. Para a associação com o frio de -5°C os mutantes foram 25% superiores em relação a ambas as testemunhas estudadas.

Assim como qualquer mudança herdável, a mutação pode ser uma modificação específica de um gene, identificada como mutação de ponto, ou ser em função da modificação do número ou estrutura dos cromossomos (ALLARD, 1971). A indução de mutação por produtos químicos pode vir a proporcionar alterações nos nucleotídeos aleatoriamente ao longo do genoma, proporcionando distintas mutações no material genético, gerando indivíduos selecionáveis em função de característica de interesse (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Analisando-se a geração M3, os mutantes foram diferentes e superiores em 50% dos indivíduos para a variável nível de frio. Para a variável nível de frio mais associação com frio extremo houve superioridade de 25 % dos mutantes em relação às testemunhas.

A tabela 3 corresponde aos testes de simulação de frio correspondente a temperatura negativa de -1°C , dos quais houve diferença mínima significativa entre os genótipos para a maior parte dos testes procedidos.

Tabela 3: Análise de variância e comparação pela diferença mínima significativa, em estudo com blocos aumentados entre testemunha x controle, para a variável tolerância ao frio em mutantes da geração M2 e M3 em relação a testemunhas comerciais de *Brachiaria brizantha*, para o nível de -1°C e associação a -5°C , Frederico Westphalen-RS, 2014.

Genótipos	Temperatura de exposição			
	-1°C	$(-1^{\circ}\text{C} + -5^{\circ}\text{C})$	-1°C	$(-1^{\circ}\text{C} + -5^{\circ}\text{C})$
1- BRS Piatã	-	-	0,85024025	0,33641525
2-Marandu	0,51106225	0,0261905	-	-
3-M2	0,76768825*	0,05922662	0,76768825	0,05922662
4-M2	0,74492275*	0,06869713	0,74492275	0,06869713
5-M2	1*	0,08887888	1*	0,08887888
6-M2	0,70598025*	0,46904487*	0,70598025	0,46904487
7-M3	0,46768825	0,23077338	0,46768825	0,23077338
8-M3	0,86992275*	0,93130288*	0,86992275	0,93130288*
9-M3	0,63974175*	0,08887888	0,63974175	0,08887888
10-M3	0,55042425	0,14904488	0,55042425	0,14904488

*Diferença mínima significativa de 0,1233, 0,2296, 0,1233, 0,2296 da esquerda em direção à direita respectivamente entre testemunhas e mutantes.

A segunda geração M2, para o nível de frio estudado os mutantes apresentaram-se com 25% de superioridade em relação à testemunha BRS Piatã e 100% em relação a cultivar Marandu. Na mesma geração com o nível de frio associado à temperatura de -5°C, na comparação entre às testemunhas e a cultivar marandu houve 25 % de superioridade. Todavia com relação a cultivar BRS Piatã não foi expresso diferença mínima significativa, demonstrando uma possível maior tolerância dessa condição de temperatura em indivíduos da população da cultivar BRS Piatã. Diferentes genótipos geram diferentes respostas para tolerância ao frio, com a terceira geração de indivíduos mais adaptado ao mesmo que os progenitores, muito influenciado pela seleção ambiental (BERTIN e BOUHARMONT, 1997).

A geração M3 para o nível de frio estudado condiz de superioridade de 50% para os mutantes em relação a cultivar Marandu e nenhuma diferença em relação a cultivar BRS Piatã, para a associação com frio de -5 °C, os mutantes apresentaram-se com superioridade de 25% em relação às testemunhas. Conforme pesquisa desenvolvidas por Jank et al., (2002), para aclimação de forrageiras ao frio, o mesmo encontrou considerável herdabilidade para tolerância ao frio em dois ciclos de cultivos.

Para os indivíduos avaliados com temperatura de -2°C, houve superioridade dos mutantes para todos os testes em geração M2, entretanto para a geração M3 alguns mutantes não expressaram diferença mínima significativa. A apomixia traz redução na variabilidade genética de forrageiras (RESENDE et al., 2008), naturalmente pode ser denominado de apomixia a reprodução vegetativa que substitui o método sexual (STEBBINS, 1941)

Na geração M2 para os diferentes níveis de frio, os mutantes expressaram-se com superioridade de 25% em relação a cultivar BRS Piatã e 75% em relação a cultivar Marandu, com relação ao nível de frio em associação a -5°C houve superioridade de 50% para ambas as cultivares. Existem duas maneiras de ocorrerem modificações genéticas nos indivíduos, ocasionadas por indução ou naturalmente, constituem-se de mutações (MULLER, 1927) ou poliploidia (WITTMANN, 2003).

Em geração M3 houve diferença mínima significativa com 75% de superioridade dos mutantes em relação a cultivar Marandu para o nível de frio de -2°C, para os demais tratamentos estudados nessa geração associado ao nível de frio, não houve diferença. A aclimação a estresses ambientais é de grande

importância em programas de melhoramento de forrageiras, onde existe elevada variabilidade natural a ser explorada, junto ao banco de germoplasma brasileiro (VALLE et al., 2009).

Tabela 4: Análise de variância e comparação pela diferença mínima significativa, em estudo com blocos aumentados entre testemunha x controle, para a variável tolerância ao frio em mutantes da geração M2 e M3 em relação a testemunhas comerciais de *Brachiaria brizantha*, para o nível de -2°C e associação a -5°C, Frederico Westphalen-RS, 2014.

Genótipos	Temperatura de exposição			
	-2°C	(-2°C + -5°C)	-2°C	(-2°C + -5°C)
1-BRS Piatã	-	-	0,6234025	0,1547325
2-Marandu	0,389955	0,0755	-	-
3-M2	0,68565875*	0,34486125	0,68565875	0,34486125
4-M2	1*	0,75955625*	1*	0,75955625*
5-M2	0,66348375*	0,33046625	0,66348375	0,33046625
6-M2	0,35132375	0,63711625*	0,35132375	0,63711625*
7-M3	0,48565875	0,29486125	0,48565875	0,29486125
8-M3	0,58958375*	0,08007625	0,58958375	0,08007625
9-M3	0,56904375*	0,18046625	0,56904375	0,18046625
10-M3	0,62238375*	0,19203625	0,62238375	0,19203625

*Diferença mínima significativa de 0,1635, 0,2707, 0,1635, 0,2707 da esquerda em direção à direita respectivamente entre testemunhas e mutantes.

A tabela 5, relativa ao estudo de indivíduos no nível de frio de -3°C, procedendo-se diferença mínima significativa para a maior parte dos tratamentos estudados.

Para a geração M2 em diferentes níveis de frio os indivíduos mutantes expressaram-se com 25% de superioridade em relação às testemunhas, para a associação de diferentes temperaturas com frio associado de -5°C os mutantes expressaram-se com 75% de superioridade em relação a cultivar BRS Piatã, entretanto sem expressar diferença mínima significativa para a cultivar Marandu.

A geração M3 no nível de frio de -3°C expressou superioridade de 75% dos mutantes em relação a ambas às testemunhas comerciais, todavia a mesma temperatura em associação a -5°C expressaram-se com superioridade de 25% dos indivíduos mutantes em relação às testemunhas. Dentre os mecanismos desenvolvidos pelas plantas para aumentar a tolerância ao frio, esta a maior

acumulação de aminoácidos e açúcares (ALCÁZAR, 2011) fluidez da membrana (TAIZ e ZEIGER, 2013) ação de proteínas anti-congelamento (WANG et al., 2006).

Tabela 5: Análise de variância e comparação pela diferença mínima significativa, em estudo com blocos aumentados entre testemunha x controle, para a variável tolerância ao frio em mutantes da geração M2 e M3 em relação a testemunhas comerciais de *Brachiaria brizantha*, para o nível de -3°C e associação a -5°C, Frederico Westphalen-RS, 2014.

Genótipos	Temperatura de exposição			
	-3°C	(-3°C + -5°C)	-3°C	(-3°C + -5°C)
1- BRS Piatã	-	-	0,34857469	0,04181185
2-Marandu	0,33640351	0,15657895	-	-
3-M2	0,45777732	0,26460893	0,45777732	0,26460893*
4-M2	0,3934992	0,32192267	0,3934992	0,32192267*
5-M2	0,84590743*	0,21200028	0,84590743*	0,21200028*
6-M2	0,39356045	0,14267366	0,39356045	0,14267366
7-M3	0,22444399	0,03539107	0,22444399	0,03539107
8-M3	0,54804465*	0,3491954*	0,54804465*	0,3491954*
9-M3	0,55424076*	0,08700028	0,55424076*	0,08700028
10-M3	0,6702403*	0,0991954	0,6702403*	0,0991954

*Diferença mínima significativa de 0,1815, 0,1685, 0,1815, 0,1685 da esquerda em direção à direita respectivamente entre testemunhas e mutantes.

A pré-seleção de indivíduos para tolerância ao frio, ocorre nas populações testemunhas e comerciais, podendo a pré-seleção ser uma importante ferramenta para auxiliar os programas de melhoramento genético.

Percebe-se que a seleção de indivíduos com exposição moderado ao frio, expressa-se com maior frequência, todavia em situações com maior pressão do ambiente para seleção de indivíduos, aumenta as chances dos programas de melhoramento a encontrarem indivíduos superiores. A aclimação de gramíneas tropicais ao frio é avaliado pelo dano foliar e sobrevivência das plantas em condições de campo (LUDLOW, 1980), entretanto o estágio de plântula apresenta-se como a fase de maior susceptibilidade ao frio (SOUZA, 2013).

Em trabalho desenvolvido por Bertin e Bouharmont (1997) para estudo de tolerância ao frio em diferentes populações de *Oryza sativa*, com os estresses induzidos pelo frio é diretamente ligado a sensibilidade presente nas variedades e entre variedades, com avaliações procedidas com “bulk” e pedigree revelando haver

variação entre gerações estudadas. Para grande parte das espécies de *Brachiaria* o índice de variabilidade genética expressa naturalmente, pode ser considerado com valores inferiores aos encontrados para algumas espécies caracterizadas como autógamias (AMBIEL et al., 2008).

Tabela 6: Comportamento de genótipos dentro da população em função dos níveis de frio, para ganho de seleção estimado (%), para NF (níveis de frio) e N.F. + Ass. -5°C (níveis de frio associado a frio extremos de -5°C) em genótipos oriundos de indução química de mutação em função de testemunhas comerciais de *Brachiaria brizantha*, Frederico Westphalen-RS, 2014.

	1 °C	0 °C	-1 °C	-2 °C	-3 °C
N.F.	14,15	28,62	0,19	7,11	0,03
N.F.+ Ass. -5 °C	18,85	19,6	46,85	45,68	9,69

De acordo com a tabela 6, condizente ao ganho de seleção estimado em função do nível de frio, dentro da população, para a aplicação do ganho de seleção estimado, o nível 0 °C foi o maior valor, seguido pelo nível de 1°C, com o nível -3 °C o menor valor com ganho de seleção próximo a zero. Em trabalho desenvolvido com o uso de agentes mutagênicos em aveia, também foi encontrado diferentes respostas para caracteres fenotípicos (COIMBRA et al., 2004).

Na associação entre níveis de frio, mais a associação com frio extremo de -5°C, os maiores valores de ganho de seleção estimados condizem às associações de -1°C e -2°C respectivamente, com o menor nível expresso em -3°C.

De acordo com a tabela 7, a pré-seleção pode ser considerada uma ferramenta útil a programas de melhoramento, visto tender a eliminação de indivíduos susceptíveis ao estresse por frio. Possivelmente o aumento da frequência de incidência de frios, proporcionam a seleção de indivíduos os quais passam por crivos mais extremos, os programas de melhoramento devem conduzir os genótipos em condições o mais próximo da realidade que os mesmos encontrarão para seu desenvolvimento e crescimento (RAMALHO et al., 2012).

Para o ganho de seleção estimado entre população, os níveis de frio expressam menores valores em comparação com os mesmos em associação ao frio extremo. Na avaliação dentro e entre famílias a resposta de diferentes genótipos é influenciada pela herdabilidade do caráter e da pressão de seleção utilizado (SOUZA et al., 2005).

Tabela 7: Comportamento de genótipos entre população de 4000 indivíduos em função dos níveis de frio, para ganho de seleção estimado (%), para NF (níveis de frio) e N.F. + Ass. -5 °C (níveis de frio associado a frio extremos de -5 °C) em genótipos oriundos de indução química de mutação em função de testemunhas comerciais de *Brachiaria brizantha*, Frederico Westphalen-RS, 2014.

	população M2	população M3
N.F.	6,59	3,37
N.F.+Ass. -5 °C	26,78	17,33

Na comparação entre gerações a população M3 expressou menores valores que a geração M2, possivelmente em função da menor variabilidade presente, em função do efeito da seleção. Na evolução natural como em técnicas aplicadas pelo melhoramento, às populações estão submetidas a crivos seletivos e através de um processo continuado de peneiramento age a força primordial da seleção, favorecendo indivíduos com determinadas características (ALLARD, 1971).

A baixa aclimação de forrageiras como o gênero *Brachiaria* para tolerância a geada, pode vir a ter uma estreita relação com a baixa capacidade de produção de novas folhas em baixas temperaturas, para essas culturas os trópicos de alta altitude e regiões sub-tropicais são locais indicados para a busca de variação de germoplasma, procedendo-se da seleção para crescimento em baixas temperaturas e pontos de crescimento abaixo da superfície do solo (LUDLOW, 1980).

3.4 Conclusões

A indução de mutação química, gerou variabilidade genética para indivíduos de *B. brizantha* com o auxílio da pré-seleção em baixas temperaturas, selecionando-se indivíduos aclimatados em todos os níveis de temperatura.

O ganho de seleção estimado foi maior para o nível de frio em 0°C, em nível de frio associado ao frio extremo e a temperatura de -1°C teve expressão de maiores valores.

Para o ganho de seleção estimado dentro da população a associação com o frio extremo, proporcionou maior ganho de seleção estimado, entre populações

(gerações) a população M3 expressou menores valores que a M2, pela menor variabilidade presente em função da seleção aplicado pelo meio nos indivíduos em aclimatação.

3.5 Referências bibliográficas

ALCÁZAR, R.; CUEVAS, J. C.; PLANAS, J.; ZARZA, X.; BORTOLOTTI, C.; CARRASCO, P.; SALINAS, J.; TIBURCIO, A. F.; ALTABELLA, T. Integration of polyamines in the cold acclimation response. **Plant Science**, Limerick, v. 180, p. 31-38, 2011.

ALLARD, R. W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 1971. 485 p.

AMBIEL, A. C.; GUABERTO, L. M.; VANDERLEI, T.M.; NETO, N.B.M. Agrupamento de acessos e cultivares de três espécies de *Brachiaria* por RAPD. **Acta Sci. Agron.** Maringá, v. 30, n. 4, p. 457-464, 2008.

ASSIS, G. M. L.; EUCLYDES, R. F.; CRUZ, C. D. & VALLE, C. B. Discriminação de espécies de *Brachiaria* baseada em diferentes grupos de caracteres morfológicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 3, p. 576-584, 2003.

BERTIN, P., BOUHARMONT, J. Use of somaclonal variation and in vitro selection for chilling tolerance improvement in rice. **Euphytica**, Dordrecht, v. 96, p.135-142, 1997.

BRASIL. **Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, Brasília: DF, 2009, 399 p.

CARVALHO, F. I. F. de; SILVA, S. A.; KUREK, A. J.; MARCHIORO, V. S. **Estimativas e implicações da herdabilidade como estratégia de seleção**. Pelotas: UFPel. Ed. 1, Universitária, 2001. 99p.

CRUZ, C.D. **Programa Genes: Análise multivariada e simulação**. Editora UFV. Viçosa (MG). 175p. 2006.

COIMBRA, J. L. M.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C. Genetic variability in populations of oat induced by chemical and physical mutagenic agents. **Crop Breeding And Applied Biotechnology**, Viçosa, v.4, p.48-56, 2004.

COSTA, K. A. P.; OLIVEIRA, I. P.; FAQUIN, V.; NEVES, B. P.; RODRIGUES, C.; SAMPAIO, F. M. T. Intervalo de corte na produção de massa seca e composição químico-bromatológica da *Brachiaria brizantha* cv. MG-5. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1197-1202, 2007.

JANK, L.; QUESENBERRY, A. R. S.; BLOUNT, A. R. S.; MISLEVY, P. Selection in *Setaria sphacelata* for winter survival. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 45, p.273-281, 2002.

LUDLOW, M.M. Stress physiology of tropical pasture plants. **Tropical Grassland**, Cali, v.14, n.3, p.136-145, 1980.

MARANHÃO, C. M. A.; BONOMO, P.; PIRES, A. J. V.; COSTA, A. C. P. R., MARTINS, G. C. F.; CARDOSO, E. O. Características produtivas do capim-braquiária submetido a intervalos de cortes e adubação nitrogenada durante três estações. **Animal Sciences**, Maringá, v. 32, n. 4, p. 375-384, 2010.

MULLER, H.J. Artificial transmutation of the gene. **Science**, Austin, v. 66, p. 84–87. 1927.

RAMALHO, A. P. R.; SANTOS, J. B. dos; PINTO, C. A. B. P.; SOUZA, E. A. de; GONÇALVES, F. M. A.; SOUZA, J. C. de. **Genética na agropecuária**. 5 ed., Lavras: UFLA, 2012, 566p.

RESENDE, R. M. S.; VALLE, C. B. do; JANK, L. **Melhoramento de forrageiras tropicais**, EMBRAPA: Campo Grande-MS, 1. ed. 293p. 2008.

SILVA A. B. da; LANDGRAF P. R. C.; MACHADO G. W. O. Germinação de sementes de braquiária sob diferentes concentrações de giberelina. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 657-662, 2013.

SOUZA F. H. D. de; MATTA F. de P; FÁVERO A. P. **Construção de ideótipos de gramíneas para usos diversos**. Brasília, DF: EMBRAPA, 381 p., 2013.

SOUZA, V. Q.; PEREIRA, A. da S.; FRITCHE NETO, R.; SILVA, G. O.; OLIVEIRA, A. C. Potential of selection among and within potato clonal families. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 5, n. 2, p. 199-206, 2005.

STEBBINS, G. L. Apomixis in the angiosperms. **Botanical review**, Oakland, v. 7, n.10, 507-542p. 1941.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954p.

VALLE C. B. DO; JANKI L.; RESENDE R. M. S.; O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. **Revista Ceres**, Viçosa, v.56, n. 4: 460-472, 2009.

WANG, X.; LI, W.; WELTI, R. Profiling lipid changes in plant response to low temperatures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, DK, v. 126, p. 90-96, 2006.

WITTMANN, M. T. S.; DALL'AGNOL, M.; Indução de poliploidia no melhoramento de plantas. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v.9, n. 1-2, p. 155-164, 2003.

CAPÍTULO III

4 VARIABILIDADE E ACLIMATAÇÃO DE MUTANTES DE BRAQUIÁRIA

RESUMO: O melhoramento genético de forrageiras encontra dificuldades para gerar e aumentar a variabilidade genética das espécies de interesse agrônômico devido à presença de apomixia e diferentes níveis de ploidia encontrada nos genótipos. O presente estudo foi desenvolvido com o intuito de analisar a variabilidade genética, expressa por caracteres fenotípicos, procedendo-se a avaliação do efeito da indução química de mutações na dissimilaridade entre acesso apomíticos, de *Brachiaria brizantha* em adaptação a condições sub-tropicais. Foi induzido 4000 sementes de genótipos comerciais ao agente mutagênico Metil Metano Sulfonado (MMS) na dosagem de 0,5%, os quais foram pré-selecionados em condições de baixa temperatura em câmara de germinação controlada, avaliados por dois anos sob condições sub-tropicais, em Frederico Westphalen - RS 27°23'26"S e 53°25'43"O, com altitude de 461,3 metros. Procedeu-se do estudo da dissimilaridade genética dos acessos em função de 21 variáveis através da distância euclidiana média, foram estabelecidas as contribuições dos caracteres pela metodologia proposta por Singh (1981), e avaliação da adaptação e crescimento dos genótipos com potenciais de gerarem indivíduos superiores as testemunhas comerciais. A indução de mutação química amplia a variabilidade genética entre os genótipos, a pré-seleção associada à seleção natural em dois anos de cultivo, foram favoráveis inicialmente para identificar indivíduos com potenciais para seleção de genótipos superiores em condições sub-tropicais.

Palavras chave: Geada, crescimento, variabilidade, melhoramento, mutação.

VARIABILITY OF MUTANT AND ACCLIMATIZATION BRACHIARIA

ABSTRACT: The forage breeding finds difficult to generate and increase the genetic variability of the species of agronomic interest due to the presence of apomixis and different levels of ploidy found in genotypes. This study was developed in order to analyze the genetic variability, expressed by phenotypic characters, proceeding to evaluate the effect of chemical induction of mutations at the dissimilarity between apomictic access *Brachiaria brizantha* in adaptation to sub-tropical conditions. 4000 commercial seed genotypes was induced to Methyl Methane Sulfonate (MMS) mutagen at a dosage of 0.5%, which were preselected under low temperature in a controlled growth chamber, evaluated by two years under sub-tropical conditions in Frederico Westphalen - RS 27 ° 23'26" S and 53 ° 25'43" O, with an altitude of 461.3 meters. We proceeded to study the genetic dissimilarity of accesses according to 21 variables by euclidian middle distance, the contributions of the characters by the methodology proposed by Singh (1981), and evaluation of adaptation and growth of genotypes with potential to generate superior individuals to the commercial witnesses. The chemical induction of mutation enlarge the genetic variability between genotypes, the pre-selection associated with natural selection in two years of cultivation, were initially favorable to identify individuals with potential for selection of superior genotypes in sub-tropical conditions.

Keywords: Frost, growth, variability, breeding, mutation.

4.1 Introdução

A *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.), é uma forrageira tipicamente de cultivo tropical, todavia é considerada uma espécie com grande resistência à seca, podendo tolerar determinados níveis de frio e solos com elevada umidade, classificada com via fotossintética C₄, associado à anatomia de Kranz (BRITO e RODELLA, 2002).

As espécies do gênero *Brachiaria* expressam-se com grande importância para a pecuária brasileira, entretanto o melhoramento genético encontra dificuldades para aumentar a variabilidade genética junto aos bancos de germoplasma brasileiro, muito influenciado pelo modo de reprodução apomítico, encontrado na maioria dos acessos estudados (RESENDE et al., 2008). De acordo com o mesmo, dentre os

desafios dos programas de melhoramento esta a formação de populações segregantes, para diversificação e liberação de novas cultivares.

Estudos procedidos por Muller (1927) deram início a trabalhos com mutações induzidas, com o objetivo da agregação de características desejáveis com maior frequência em plantas de interesse. Dentre os genótipos apomíticos lançados no Brasil, grande parte é formada por acessos introduzidos ou coletados no país, baseado na variabilidade natural presente, entretanto a falta de diversidade, com indivíduos apresentando base genética estreita, torna os genótipos susceptíveis ao ataque de pragas e doenças (ARAÚJO et al., 2008).

De acordo com Bueno et al., (2006) a poliploidia é um dos principais fenômenos na evolução das plantas e estima-se que 70% das forrageiras cultivadas são poliplóides. Em estudo com acessos de *Brachiaria brizanta* junto ao banco de germoplasma da Embrapa, dos 222 acessos estudados todos expressaram-se poliplóides, dentre os quais 2 diplóides, 157 tetraplóides, 41 pentaplóides e 22 hexaploides, entretanto estudos vem sendo realizados para cruzar indivíduos apomíticos com indivíduos sexuais, encontrando dificuldades visto o baixo número de indivíduos com reprodução sexual e paridade quanto ao nível de ploidia (RESENDE et al., 2008).

Em estudo conduzido por Garcia et al., (2013) com 172 acessos e seis cultivares de *Brachiaria brizantha*, foi encontrado índices de similaridade com variação de 0,40 a 1,00, entretanto o tipo de reprodução e barreiras relacionadas a ploidia restringem a melhores e eficazes explorações da inter-relação entre acessos.

Dentre o gênero *Brachiaria*, em trabalhos com o uso de marcadores moleculares RAPD, a espécie *B. brizantha* apresentou maior fluxo gênico intra-espécies que as demais, entretanto o índice de variabilidade genética presente é considerado menor que algumas espécies autógamas (AMBIEL et al., 2008).

De acordo com Allard (1971) a indução de mutação é uma ferramenta para os melhoristas não dependerem das mutações espontâneas geradas na natureza. As mutações são a base para a seleção natural, todavia em grande número de eventos expressam-se deletérias e recessivas, para que a mutação se confirme as mesmas devem passar pelas forças seletivas do ambiente (BUENO et al., 2006).

Em trabalhos realizados para a construção de ideotipo de gramínea para regiões sujeitas a geadas, duas características destacam-se, a tolerância à geadas e a intensidade de afilhamento, principalmente a filhos axilares, ambos com 20% de

contribuição (SOUZA et al., 2013). O método utilizado para a seleção de novas cultivares expressa diferentes respostas junto a herdabilidade, devendo-se levar em consideração o modo de reprodução e o alvo de interesse a ser melhorado (RESENDE et al., 2013)

O presente estudo foi desenvolvido com o intuito de analisar a variabilidade genética, em mutantes de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) em aclimação as condições sub-tropicais, através de caracteres fenotípicos em populações sujeitas a crivos seletivos.

4.2 Material e métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Melhoramento Genético e Produção de Plantas da Universidade Federal de Santa Maria – *Campus* de Frederico Westphalen-RS, localizado nas coordenadas 27°23'26" latitude sul, 53°25'43" longitude oeste e altitude de 461,3 metros, Frederico Westphalen - RS. A área experimental é composta por solo classificado como Latossolo Alumínico Férrico, clima descrito por Köppen como subtropical úmido, com precipitação média anual de 2.100 mm.

As características químicas referentes ao ano de implantação do experimento seguem na tabela 8.

Tabela 8: Valores referentes a atributos químicos do solo de semeadura do experimento, Frederico Westphalen-RS, 2014.

% Argila	pH	P mg/L	K mg/L	% M.O.	Ca cmolc/L	Mg cmolc/L	CTC cmolc/L	% Sat. da CTC Bases
60,0	6,3	2,5	179,5	2,3	7,3	3,4	13,9	80,5

Induziu-se mutação em 50.000 sementes de *B. brizantha* cv. Marandu adquiridas em Campo Grande-MS, induzindo-se mutação química com o agente mutagênico Metil Metano Sulfonado (MMS), na dosagem de 0,5 % (COIMBRA, 2004).

As sementes após germinadas, foram induzidas em condições para frio de 0°C aos 21 D.A.S., procedendo-se de pré-seleção em câmara de germinação controlada, com os indivíduos sobreviventes transplantados para condições de campo, para formação de população em aclimatação na região sub-tropical.

Após aclimatação coletou-se sementes dos 35 indivíduos sobreviventes para formação da geração M2 juntamente com as testemunhas comerciais. Os genótipos foram semeados em linhas, as quais constituídas de dois metros de comprimento e 0,45 metros de distância entre genótipos, utilizando superação de dormência com o auxílio de nitrato de potássio a 0,2%, junto a linha de semeadura (BRASIL, 2009).

O delineamento utilizado para a alocação dos acessos foi o de blocos de federer, os três genótipos, utilizados como testemunha, correspondendo a cultivar *B. brizantha* MG5, *B. brizantha* BRS Piatã e *B. brizantha* Marandu, em comparação a 35 acessos em geração M2 sobreviventes a indução de mutação, pré-seleção e seleção natural em condições sub-tropicais. Procedeu-se da avaliação de 21 caracteres para estudo da dissimilaridade entre os diferentes genótipos estudados.

Os caracteres estudados constituem-se; a altura final 1º ano (AF1); Número final de inflorescência 1º ano (NF11); Número final de afilhos (NFA); Valor médio de clorofila (VMC); Altura final 2º ano (AF2); Número final de inflorescência 2º ano (NF12); Índice de notas relativo a rebrote após geadas (NRG); Número de fileiras de sementes por espiga (NFE); Comprimento da última folha aberta (CFA); Largura da última folha aberta (LFA); Comprimento da haste floral (CHF); Comprimento do eixo da inflorescência (CI); Número de racemos por inflorescência (NRI); Comprimento do racemo basal (CRB); Número de espiguetas por racemos basal (NERB); Cor do estigma (CE); Cor da antera (CA); Comprimento pilosidade da ráquis (CPR); Densidade da pilosidade do limbo (DPL); Densidade da pilosidade da bainha (DPB); Densidade da pilosidade do colmo (DPC).

As avaliações foram realizadas semanalmente após o início da emergência dos genótipos, para aferir os caracteres propostos, NFA, VMC, NRG. As demais avaliações procedidas para mensuração da dissimilaridade foram aferidas quando os genótipos atingiram o florescimento pleno e afilhos finais aos 140 DAS.

Procedeu-se da análise do crescimento e características morfológicas semanalmente dos genótipos, para avaliar a aclimatação e comportamento dos mesmos frente as condições ambientais presentes, em condições sub-tropicais, com as avaliações que seguem:

- Taxa de crescimento semanal primeiro ano: A semeadura foi realizada dia 03/04/2012, mensurando-se o desenvolvimento semanal dos acessos estudados, relativo a leitura através do incremento em altura, avaliados do início da emergência ao florescimento pleno dos genótipos.

- Taxa de crescimento semanal segundo ano: Foi mensurado o desenvolvimento semanal dos acessos estudados, relativo a mensuração de leitura através do incremento em altura, após roçada de uniformização. As leituras tiveram início dia 17/07/2013 antes da formação da primeiras geadas, correspondendo do início do rebrote ao florescimento pleno.

- Surgimento das inflorescência segundo ano: Foi procedido leitura semanal, para avaliação do surgimento das inflorescências, avaliando as inflorescências presentes nas unidades de avaliação correspondente a semana, as avaliações foram realizadas em segundo ano após roçada de uniformização, com avaliações iniciadas do dia 18/09/13 ao florescimento pleno.

Após a coleta dos dados de adaptação dos genótipos, os mesmos foram submetidos a regressão polinomial para aferir seu comportamento em condições sub-tropicais.

Para a avaliação da dissimilaridade com base nas 21 características propostas, utilizou-se do método de agrupamento da distância euclidiana média. Após procedeu-se do estudo entre as contribuições relativas dos caracteres pela metodologia de Singh (SINGH, 1981).

Após coleta e processamento dos dados os mesmos foram analisados com o auxílio do programa Genes (CRUZ, 2006).

4.3 Resultados e discussões

Os dados analisados foram submetidos ao método de agrupamento distância euclidiana média, procedendo-se da análise de dissimilaridade dos genótipos, realizou-se a análise da contribuição relativa dentre os 21 caracteres utilizados para proceder a análise dos genótipos, após avaliação e estudo da aclimação e taxa de crescimento dos melhores genótipos mutantes em comparação as testemunhas comerciais.

De acordo com a figura 1, ocorre formação de 18 grupos distintos, através da dissimilaridade média de 23,51%, dentre os quais, houve formação de 18 grupos que apresentam-se com dissimilaridade em relação as testemunhas comerciais.

Dentre os 18 grupos formados são compostos pelos genótipos: Grupo I: genótipos FW 0028, FW 0029, FW 0031, e FW 0032; grupo II: FW 0035; grupo III: FW 0011; grupo IV: FW 0034; grupo V: FW 0001, *Brachiaria brizanta* MG-5, *Brachiaria brizanta* BRS Piatã, *Brachiaria brizanta* Marandu; grupo VI: FW 0009; grupo VII: FW 0005, FW 0006, Fw 0017, FW 0019; grupo VIII: FW 0002; grupo IX: FW 0015; grupo X: FW 0030; grupo XI: FW 0004; grupo XII: FW 0023; grupo XIII: FW 0024; grupo XIV: FW 0003, FW 0007, FW 0013, FW 0020, FW 0021; grupo XV: FW 0008, FW 0010, FW 0012, FW 0014, FW 0018, FW 0027; grupo XVI: FW 0016, FW 0025, FW 0026; grupo XVII: FW 0022; grupo XVIII: FW 0033.

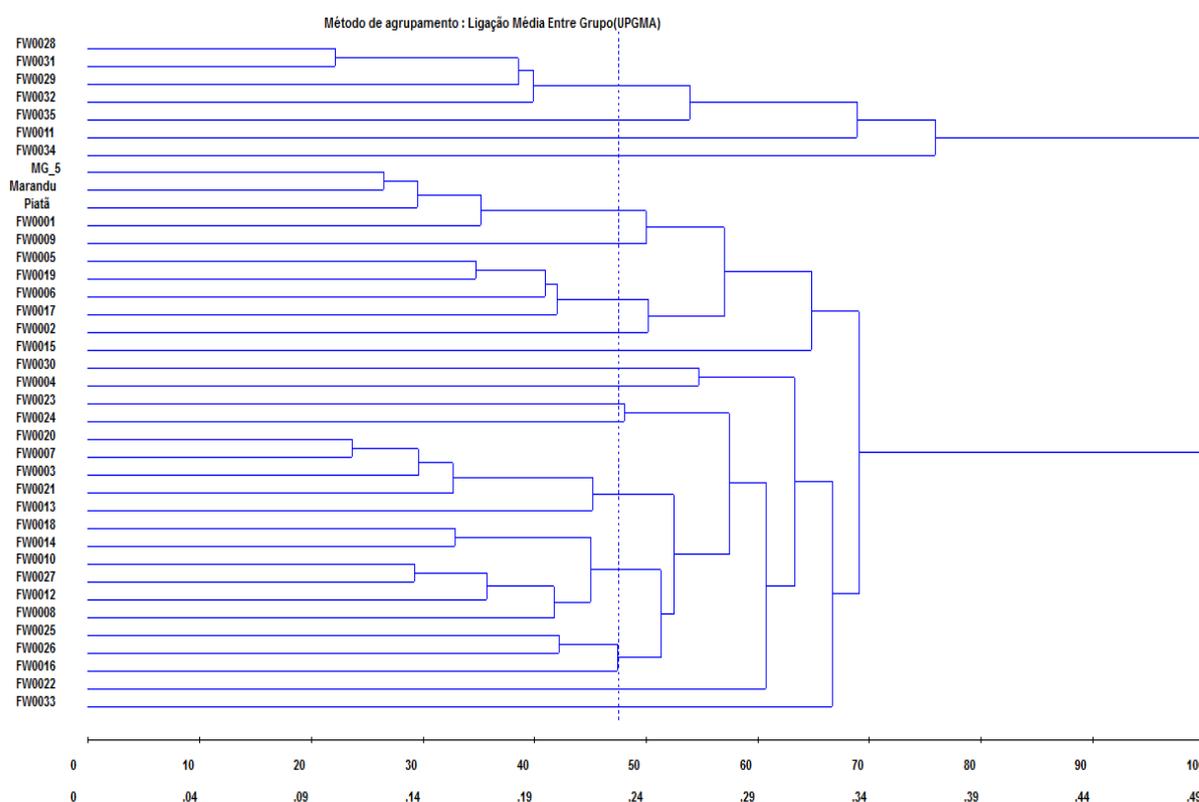


Figura 1: Dendrograma formado pela método de agrupamento UPGMA, a partir da distância euclidiana média, representando a dissimilaridade entre 35 acesso de *Brachiaria brizantha* e as cultivares comerciais *Brachiaria brizantha* MG-5, *Brachiaria brizantha* Piatã, *Brachiaria brizantha* Marandu, formados à partir de 21 caracteres morfológicos conduzido em condições de campo em clima sub-tropical, estudados durante dois anos de cultivo, Frederico Westphalen, 2014.

As três testemunhas comerciais agruparam-se em um mesmo grupo, juntamente com o genótipo FW 0001, expressando com características comuns para formação do estudo de dissimilaridade dentre os 21 caracteres estudados. Afirmando que os mesmos possuem características incomuns que trazem a eles elevada similaridade, com a mutação e seleção do ambiente agindo para aumentar a dissimilaridade com mutantes em relação a testemunhas comerciais que ficou em mais de 97%. Os genótipos em associação com o ambiente, apresentam resposta direta na expressão de suas características fenotípicas (RAMALHO et al., 2012).

Ocorreu a formação de um grupo com seis genótipos, um grupo com cinco genótipos, três grupos com quatro genótipos cada, um grupo com três genótipos, 12 grupos com apenas um genótipo. Demonstrando que a indução de mutação proporcionou elevada dissimilaridade para os genótipos, fator de elevada importância para os programas de melhoramento genético. Devido a elevada presença de apomixia em populações de braquiária (VALLE et al., 2009) que segundo Stebbins (1941) a mesma vêm a substituir o método sexual (STEBBINS, 1941).

Após a indução de mutação e pré-seleção ao frio, dos 35 acessos gerados, em geração M2, 34 indivíduos não formaram agrupamento com nenhuma das três cultivares comerciais utilizadas como testemunhas, expressando que esses genótipos apresentam-se com dissimilaridade as testemunhas comerciais e com potencial para a continuidade dos estudos junto ao programa de melhoramento genético. Uma importante ferramenta ao melhoramento genético é a diversidade genética das espécies, mantendo a capacidade natural dos indivíduos representativos à espécie, serem responsivos as mudanças climáticas e a estresses bióticos e abióticos (CRUZ, 2005).

Dentre os fatores que podem vir a gerar essa dissimilaridade é a eficiência da indução química do agente mutagênico MMS e a seleção simulada e artificial do meio, junto a geração de genótipos promissores. A adaptação ao meio para tolerância ao frio em condições de campo em Ona na Florida, procedeu-se de herdabilidade para sobrevivência com ganho de 0,39 a 0,50 em dois ciclos, sugerindo novas seleções em geração posterior (JANK et al., 2002).

De acordo com Cruz (2005), a seleção e o descarte de genótipos são mais fidedignos quando a expressão fenotípica é confiável e facilitada quando ocorre grande diferenças fenotípicas entre os indivíduos.

Esta variabilidade ampliada é de grande importância para programas de melhoramento, visto a baixa variabilidade presente em programas de melhoramento de espécies forrageiras (RESENDE et al., 2008). Barreiras como o nível de ploidia dos genótipos e apomixia trazem restrição a troca de informações genéticas entre acessos de *Brachiaria* (GARCIA et al., 2013).

As 21 variáveis estudadas (tabela 9) para formação do dendrograma, algumas apresentaram-se com maior contribuição para formação de diferentes grupos de genótipos.

Dentre elas apresentam-se em destaque com elevada dissimilaridade o número final de inflorescências 2º ano (31,60%), comprimento da haste floral (30,03%), comprimento eixo da inflorescência (20,38%), altura final 1º ano (5,95%), número final inflorescências (3,99%), altura final 2º ano (3,44), número de espiguetas por racemos basal (3,34%). As populações estão sujeitas a processos de adaptação, onde a seleção ambiental favorece indivíduos com determinadas características (ALLARD, 1971).

As demais 14 variáveis estudadas apresentam-se com elevados valores de similaridade, os quais contribuem para a dissimilaridade abaixo de 1%. O estudo da dissimilaridade entre genótipos é importante para proceder a triagem de indivíduos com potencial para seguir junto aos programas de melhoramento genético. Para registro de uma cultivar a mesma deve apresentar-se distinguibilidade de outras cultivares, por número mínimo de descritores, com os mesmos apresentando-se homogêneos e estáveis (BRASIL, 2011).

O grande monocultivo de espécies forrageiras torna os genótipos suscetíveis a morte de pastagens por fatores bióticos e abióticos, dentre o monocultivo a *B. brizantha* Marandu apresenta-se com destaque, chegando a ocupar 60% das áreas destinadas a produção de sementes no Brasil (GUARDA e GUARDA, 2014).

Apesar da predominância apomítica as espécies de braquiária apresentam apomixia facultativa aposporia do tipo *Panicum* (VALLE et al., 2009), entretanto as mutações são a principal responsável para a evolução das espécies (ALLARD, 1971). Estudos procedidos por Ambiel et al., (2010) sobre variabilidade natural de braquiárias com ampla distribuição geográfica, encontrou altos níveis de dissimilaridade, com variação de 0,262 e 0,907.

Tabela 9: Valores referentes a contribuição relativa dos caracteres para divergência de singh, com 21 caracteres morfológicos em estudo, referente a população formado por indivíduos mutantes em geração M2, testemunhas *Brachiaria brizantha* MG-5, *Brachiaria brizantha* BRS Piatã, *Brachiaria brizantha* Marandu, em dois anos de estudo, Frederico Westphalen, 2014.

Variável	Contribuição Relativa
Altura final 1º ano	5,9599
Numero final inflorescências 1º ano	3,9901
Número final de afilhos N.F.AF	0,073
Valor médio de clorofila	0,5094
Altura final 2º ano	3,4451
Número final de inflorescências 2º ano	31,6081
Índice de notas relativo a rebrote após geadas	0,0105
Numero de fileiras de sementes por espiga	0,0231
Comprimento última folha aberta	0,2485
Largura última folha aberta	0,0004
Comprimento haste floral	30,0382
Comprimento eixo da inflorescência	20,3874
Número de racemos por inflorescência	0,027
Comprimento do racemo basal	0,3091
Número de espiguetas por racemos basal	3,3463
Cor do estigma	0,0067
Cor da antera	0,0064
Comprimento pilosidade da ráquis	0,0051
Densidade pilosidade do limbo	0,0018
Densidade pilosidade bainha	0,0019
Densidade pilosidade do colmo	0,0021

De acordo com a figura 2, referente ao crescimento linear dos indivíduos estudados, da semeadura ao florescimento pleno, a qual expressa o desempenho das testemunhas comerciais e os dois genótipos mais adaptados as condições de estudo, figuram como destaque dentre os 35 indivíduos em condições de avaliação no campo, com maior adaptação os genótipos FW 0005, FW 0006.

Dentre a curva de crescimento, os cinco genótipos em estudo expressaram-se com o crescimento explicado pela curva de regressão polinomial de ordem de segundo grau para todos os indivíduos.

O momento de utilização da pastagem para o primeiro corte ou pastejo, é de suma importância para o melhoramento. Durante o crescimento dos genótipos até fase inicial do florescimento, existe uma elevada translocação de fotoassimilados da parte aérea para as raízes, reservas que ficam disponibilizadas para o rebrote vigoroso das forrageiras (MACHADO, 2010).

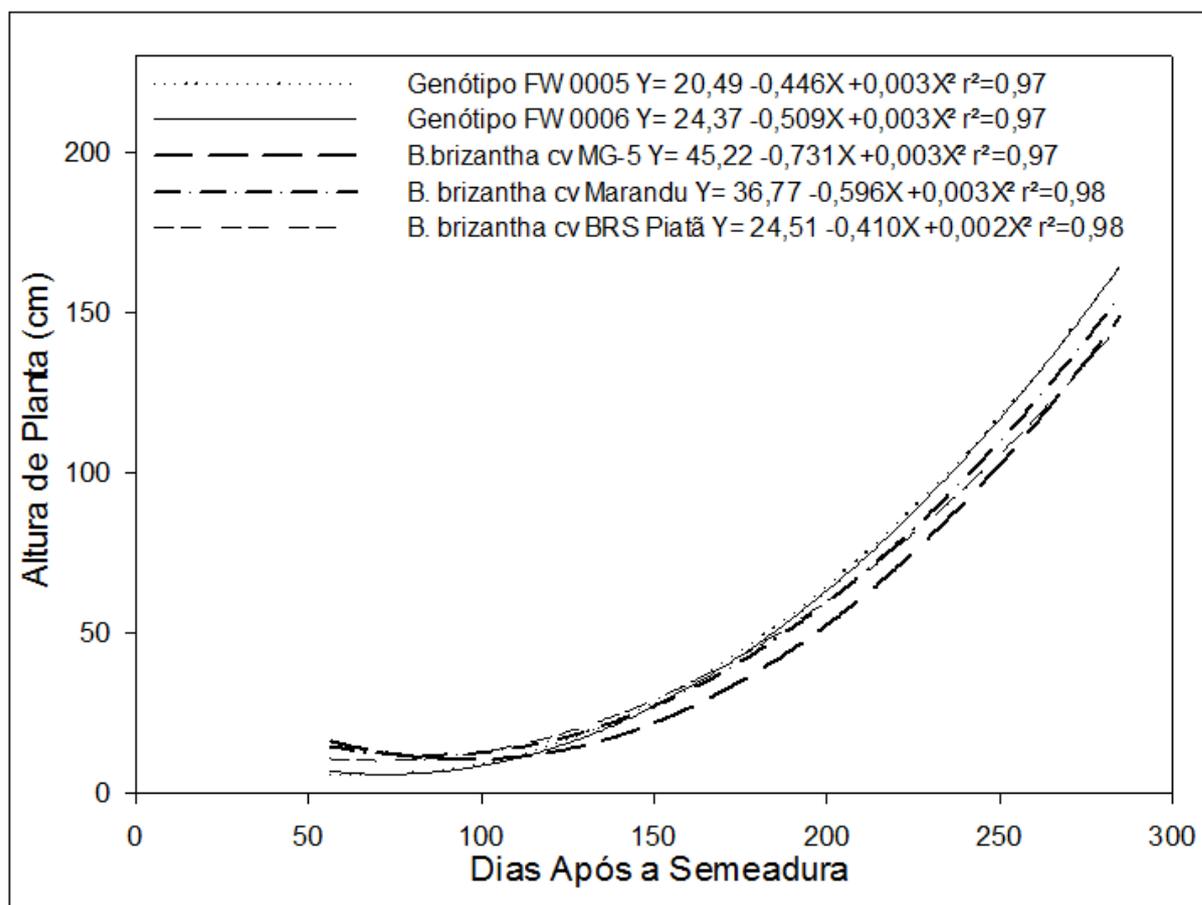


Figura 2: Crescimento linear de genótipos de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) expresso em centímetros, com medidas referentes da sementeira ao florescimento pleno, Frederico Westphalen-RS, 2014.

O início do florescimento para os genótipos correspondeu aos 208 DAS, conforme o valor estimado para a taxa de crescimento de *B. brizantha* MG-5 22,96 cm, *B. brizantha* BRS Piatã 25,75 cm, *B. brizantha* Marandu 42,59 cm. Valores inferiores aos genótipos mutantes, que expressaram-se para o genótipo FW 0006 com 48,29 cm e FW 0005 57,51 cm.

Entretanto os maiores valores estimados expressam influência da maior tolerância ao frio em período inicial, representado com os genótipos com os melhores rebrotos. Dentre as características necessárias para a tolerância ao frio em região sub-tropical, destaca-se a utilização de plântulas mais vigorosas, capacidade de afilamento, com afilhos axilares e rápido rebrote, após períodos de temperaturas baixas extremas (SOUZA et al., 2013).

Dados os quais expressam existir variabilidade genética para a tolerância ao frio, onde plantas com maior área foliar durante esse período de inverno conseguem armazenar maior quantidade de reservas para o mesmo. O vigor expresso pelo rebrote tem uma estreita relação com as reservas disponíveis pelas plantas (LENZI, 2012).

De acordo com a figura 3, referente a taxa de crescimento, em segundo ano de estudo de adaptação e crescimento dos indivíduos em condições de campo, é expresso o desenvolvimento das três testemunhas comerciais juntamente com os dois indivíduos mutantes de melhor desempenho.

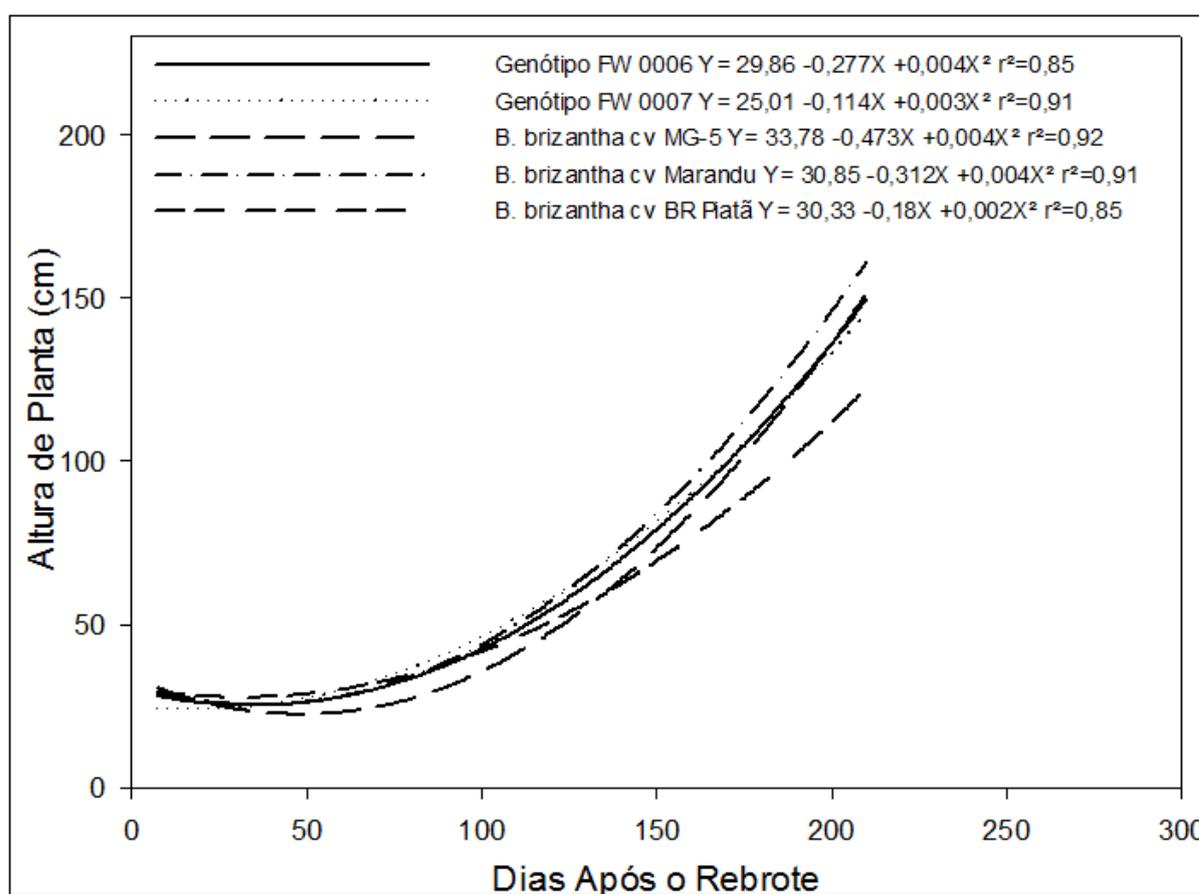


Figura 3: Crescimento linear de genótipos de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) expresso em centímetros, com medidas referentes do rebrote ao florescimento pleno, Frederico Westphalen-RS, 2014.

Analisando-se a curva de crescimento gerada pelos genótipos, os cinco genótipos em estudo expressaram-se com o crescimento explicado pela curva de regressão polinomial de ordem de segundo grau.

Para o crescimento em espécies forrageiras, o momento de proceder o início do pastejo é de suma importância. De acordo com o manejo racional das pastagens o momento de iniciar-se o pastejo é referente a fase inicial de florescimento, pois o momento anterior é prejudicial as reservas estruturais translocadas e armazenadas e o momento posterior ao momento ideal de pastejo diminui a qualidade das mesmas (MACHADO, 2010).

O momento em que os genótipos expressam o início do florescimento, condiz com a data de 119 dias após o rebrote, correspondente ao momento adequado para iniciar-se o pastejo.

O valor estimado para as testemunhas comerciais *Brachiaria brizantha* MG-5 foi de 34,14 cm, *Brachiaria brizantha* BRS Piatã 37,23 cm, *Brachiaria brizantha* Marandu 50,36 cm. Os genótipos mutantes apresentaram valores próximos a cultivar Marandu porem superiores, com valores de 53,54 e 53,92 cm respectivamente para os genótipos FW0006 e FW0007. Justificando elevada adaptação ao meio, onde um rápido rebrote após período de temperaturas baixas é desejável para que ocorra a utilização de animais junto as pastagens (SOUZA et al., 2013).

O genótipo FW0006 expressou-se entre os melhores indivíduos, referente ao crescimento linear, nos dois anos de avaliação, caracterizando-se como um genótipo com estabilidade e elevado potencial, característica buscada por programas de melhoramento genético. Características quantitativas, caracterizam-se por apresentarem variação contínua, controladas pelas associação de muitos genes, sob grande influência do ambiente (CRUZ, 2005).

Expressando haver potencial para seleção de indivíduos superiores as testemunhas comerciais em estudo. O aumento da variabilidade genética é importante para diminuir a susceptibilidade das espécies a eventuais ataques de pragas e doenças, fato que apresenta maior risco para genótipos de braquiária os quais apresentam-se com base genética estreita, devido ao modo de reprodução apomítico (ARAÚJO et al., 2008).

Analisando-se a figura 4, correspondente ao surgimento de inflorescências em segundo ano de avaliação, foi procedido a comparação dos três genótipos estudados como testemunhas *B. brizantha* MG-5, *B. brizantha* BRS Piatã, *B.*

brizantha Marandu, juntamente com os dois genótipos mutantes que melhor adaptaram-se para as condições de estudo, correspondente ao genótipo FW 0025 e FW 0013.

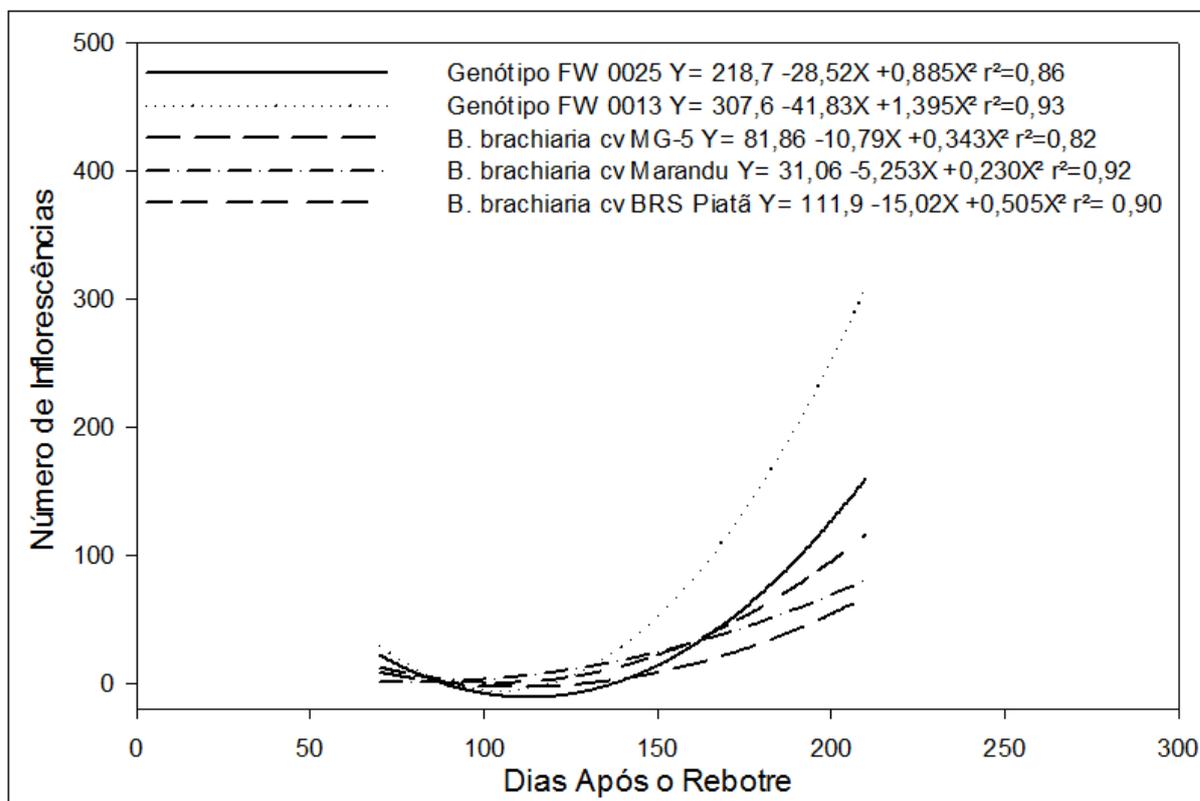


Figura 4: Surgimento de inflorescências de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) expresso em unidades por parcela de avaliação, com medidas semanais expressas do rebrote ao florescimento pleno, Frederico Westphalen-RS, 2014.

Os indivíduos avaliados semanalmente tem desenvolvimento explicado pela curva de regressão polinomial de ordem de segundo grau para a variável surgimento das inflorescências após rebrote de inverno.

A importância de selecionar-se genótipos com elevado potencial produtivo e qualidade, adaptado ao meio, esta dentre os objetivos dos programas de melhoramento genético, entretanto se os mesmos apresentarem baixa produção de sementes, inviabiliza o lançamento do genótipo. Em trabalho desenvolvido por Jank et al., (2007) com *Setaria sphacelata*, foi encontrado para a população estudada aumento de 17% do número de inflorescências em relação a população original.

Ao proceder-se a seleção de indivíduos superiores, associado a elevada produção de sementes, encontra-se maior probabilidade de aceitação e sucesso de genótipos lançados, influenciado pelo almejo e busca de indivíduos que proporcionem diminuição dos custos produtivos, junto aos produtores de sementes, chegando ao consumidor final com preços mais competitivos. Segundo Costa et al., (2012) em estudo com a integração de braquiária como cobertura de solo, a *Brachiaria brizantha* destacou-se como o tratamento de melhor desempenho técnico e econômico.

De acordo com KRUTZMANN et al., (2014) a espécie de *B. brizantha* apresentou-se com viabilidade para sistemas de integração lavoura-pecuária. Entretanto procedendo-se análise econômica o uso da mesma tornou-se de baixa viabilidade para sistemas, em função do elevado custo para implantação da lavoura, justificado alto custo das sementes (GARCIA, 2012).

A curva de tendência estimada correspondente, expressa a produção de 66 inflorescência junto a testemunha comercial MG-5, 115 inflorescências para *B. brizantha* BRS Piatã e 80 para a *B. brizantha* Marandu. Os melhores genótipos expressos durante a avaliação FW0013 e FW0025, ambos com 308 e 159 inflorescência por unidade de avaliação respectivamente. Com considerável superioridade em relação as testemunhas comerciais, possivelmente com maior produção de sementes, podendo considera-los genótipos com potencial produtivo para os programas de melhoramento.

O planejamento e decisão de seleção é um momento vital para um programa de melhoramento, entretanto a questão de associar-se elevada produção de massa e produção de sementes junto aos genótipos, deve apresentar-se com equilíbrio. Em trabalho desenvolvido em programa de melhoramento de *Setaria sphacelata* o aumento do número de inflorescência diminuiu a altura do dossel vegetativo, sobretudo em mesmo trabalho o autor cita a necessidade de maior estudo para a eminente informação (JANK, et al., 2007).

O maior número de inflorescências possivelmente proporciona maior produção de sementes, importante para o melhoramento genético. Souza et al. (2013) afirma que uma forrageira ideal deveria apresentar diminuição da contribuição relativa das estruturas reprodutivas sem prejuízos a produtividade de forragem e sementes. O aumento da massa das inflorescências é um grande responsável pelo aumento da produção de sementes, entretanto a massa das

sementes e fertilidade das inflorescências expressam relação direta na massa das inflorescências (BEAN, 1972).

4.4 Conclusão

A indução de mutação com Metil Metano Sulfonado amplia a variabilidade genética junto a genótipos de *B. brizantha*, com 34 dos 35 genótipos mutantes sobreviventes a pré-seleção e seleção com dissimilaridade em relação as testemunhas.

O uso da pré-seleção ao frio, associado à seleção natural, tem como resultados iniciais favoráveis para geração de genótipos com adaptação a condições sub-tropicais, para taxa de crescimento e número de inflorescências.

Ao avaliar a aclimatação, taxa de crescimento e dissimilaridade dos genótipos estudados, foi encontrado indivíduos com potenciais para prosseguir os trabalhos de seleção de genótipos superiores.

4.5 Referências bibliográficas

ALLARD, R. W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 1971. 485 p.

AMBIEL, A. C.; GUABERTO, L. M.; VANDERLEI, T.M.; NETO, N.B.M. Agrupamento de acessos e cultivares de três espécies de *Brachiaria* por RAPD. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 4, p. 457-464, 2008.

AMBIEL, A. C.; NETO, N. B. M.; GUABERTO, L.M.; VANDERLEI, T. M. *Brachiaria* germplasm dissimilarity as shown by RAPD markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. Viçosa, v. 10: p. 55-64, 2010.

ARAÚJO, S.A.C; DEMINICIS, B.B.; CAMPOS, P.R.S.S. Melhoramento genético de plantas forrageiras tropicais no Brasil. **Archivos de zootecnia**, Córdoba, v. 57, p. 61-76, 2008.

BEAN, E. W. Clonal evaluation for increased seed production in two species of forage grasses, *Festuca arundinacea* Schred. and *Phleum pratense* L. **Euphytica**, Wageningen, v. 21, p. 377-383, 1972.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Proteção de cultivares no Brasil**. Universidade Federal de Viçosa. Brasília, 2011, 202p.

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, Brasil. 2009, 399 p.

BRITO, C.J.F.A; RODELLA, R.A. Caracterização morfo-anatômica da folha e do caule de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf e *B. humidicula* (Rendle) Schweick. (Poaceae). **Revista brasileira de botânica**, São Paulo, v.25, n.2, p.221-228, 2002.

BUENO, L.C. de S.; MENDES, A. N. G.; CARVALHO, S. P. de. **Melhoramento genético de Plantas**: Princípios e procedimentos. 2 ed., editora UFLA, 2006. 319p.

COIMBRA, J.L.M.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C. Genetic variability in populations of oat induced by chemical and physical mutagenic agents. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 4, p. 48-56, 2004.

COSTA, N. R.; ANDREOTTI, M.; GIOIA, M. T.; TARSITANO, M. A. A.; PARIZ, C. M.; BUZETTI, S. Análises técnicas e econômicas no sistema de integração lavoura-pecuária submetido à adubação nitrogenada. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n. 5, p. 597-605, 2012.

CRUZ, C. D. **Princípios de genética quantitativa**. Editora UFV, 1 ed. Viçosa (MG), 2005, 394p.

CRUZ, C. D. **Programa Genes: Biometria**. Editora UFV, Viçosa (MG). 2006, 382p.

GARCIA, C. M. de P.; ANDREOTTI, M.; TARSITANO, M. A. A.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; LIMA, A. E. da S.; BUZETTI, S. Análise econômica da produtividade de grãos de milho consorciado com forrageiras dos gêneros *Brachiaria* e *Panicum* em sistema plantio direto. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 59, n. 2, p. 157-163, 2012.

GARCIA, M.; VIGNA, B.B.Z.; SOUSA, A.C.B.; JUNGSMANN, L.; CIDADE, F.W.; TOLEDO-SILVA, G.; FRANCISCO, P.M.; CHIARI, L.; CARVALHO, M.A.; KARIA, C.T.; FALEIRO, F. G.; GODOY, R.; DALL'AGNOL, M.; PAGLIARINI, S.S.; SOUZA, F.H.D.; SOUZA-CHIES, T.T.; JANK, L.; RESENDE, R. M. S.; VALLE, C. B. do; ZUCCHI, M.; SOUZA, A. P. Molecular genetic variability, population structure and mating system. **Tropical Forages**, v. 1, p. 25-30, 2013.

GUARDA, V.Del'A. and GUARDA, R.Del'A. Brazilian Tropical Grassland Ecosystems: Distribution and Research Advances. **American Journal of Plant Sciences**, v. 5, p. 924-932, 2014.

JANK, L.; QUESENBERRY, A. R. S.; BLOUNT, A. R. S.; MISLEVY, P. Selection in *Setaria sphacelata* for winter survival. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 45, p. 273-281, 2002.

JANK, L.; QUESENBERRY, K. H.; SOLLENBERGER, L. E.; WOFFORD, D.S.; LYRENE, P. M. Selection of morphological traits to improve forage characteristics of *Setaria sphacelata* grown in Florida. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 50, p. 73-83, 2007.

KRUTZMANN, A.; CECATO, U.; SANTOS, G. T. dos; LINO, D. A.; HORST, J. A. RIBEIRO, O. L. Produção animal, composição química e digestibilidade de forrageiras tropicais em sistema de integração lavoura-pecuária. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 2, p. 491-501, 2014.

LENZI, A. Fundamentos do Pastoreio Racional Voisin. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre. v. 7, n. 1, p. 82-94, 2012.

MACHADO L. A. Z.; ASSIS P. G. G. de; Produção de palha e forragem por espécies anuais e perenes em sucessão à soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 4, p. 415-422, 2010.

MULLER, H.J. Artificial transmutation of the gene. **Science**, Austin, v. 66, p. 84-87, 1927.

RAMALHO, A. P. R.; SANTOS, J. B. dos; PINTO, C. A. B. P.; SOUZA, E. A. de; GONÇALVES, F. M. A.; SOUZA, J. C. de. **Genética na agropecuária**. 5 ed., Lavras: UFLA, 2012, 566p.

RESENDE, R. M. S.; CASLER M. D.; RESENDE, M. D. V. de. Selection Methods in Forage Breeding: A Quantitative Appraisal. **Crop Science**, Madison, v. 53, p. 1925-1936, 2013.

RESENDE, R. M. S.; VALLE, C. B. do; JANK, L. **Melhoramento de forrageiras tropicais**, EMBRAPA: Campo Grande-MS, 1. ed. 2008. 293p.

SINGH B. K. On the asymptotic accuracy of efron's bootstrap. **Stanford University**, Stanford, v. 9, n. 6, p. 1187-1195, 1981.

SOUZA F. H. D. de; MATTÁ F. de P; FÁVERO A. P. **Construção de ideótipos de gramíneas para usos diversos**. Brasília, DF: EMBRAPA, , 2013. 381 p.

STEBBINS, G. L. Apomixis in the angiosperms. **Botanical review**, Oakland, v. 7 n. 10, p. 507-542, 1941.

VALLE, C. B. do; JANK, L.; RESENDE, R. M. S. O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 56, n. 4, p.460-472, 2009.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos procedidos indicam ser viável a geração de variabilidade genética através da indução química de mutação em *B. brizantha*, gerando indivíduos com elevado potencial de aclimação.

A cultura da braquiária constitui-se uma das principais forrageiras da pecuária brasileira, representando elevada importância econômica para o país. Pesquisa, lançamento de cultivares e tecnologia para produção de sementes, fizeram que o país se torna em poucos anos, o maior produtor, exportador e consumidor de sementes, com a principal espécie comercializada a cultivar Marandu, que esta presente no mercado a mais de duas décadas.

Dentre os problemas que os programas de melhoramento genético enfrentam está a limitada variabilidade existente em seus bancos de germoplasma, limitada pela grande maioria dos acessos serem classificados como apomíticos, dificultando o cruzamento artificial para geração de variabilidade.

Uma alternativa proposta é a indução química de mutação, para geração de maior variabilidade genética, com resultados importantes expressos nesse trabalho, que identificou bons níveis de variabilidade gerados em mutantes com relação as testemunhas comerciais.

O estudo da dissimilaridade vem a ser uma ferramenta importante, para identificação dos genótipos com características fenotípicas que distinguem-se do material de origem, nesse trabalho foi possível identificar pela análise da dissimilaridade genética de 34 genótipos formação de grupos diferentes ao material de origem, dentre os 35 mutantes analisados.

A indução de mutação química, gerou variabilidade genética para indivíduos de *B. brizantha*, selecionados para pré-disposição de tolerância ao frio, podendo ser procedido seleção de indivíduos em todas as temperaturas a partir da pré-seleção.

Para o ganho de seleção estimado dentro da população a associação com o frio extremo, proporcionou maior ganho de seleção estimado, entre populações (gerações), a população M3 expressou menores valores que a M2, pela menor variabilidade presente em função da seleção do meio.

A aplicação da pré-seleção em programas de melhoramento genético, torna-se uma importante ferramenta, que vem a auxiliar os melhoristas de plantas na seleção dos indivíduos que possuem tendência a característica de interesse, ou eliminar em primeiro momento os que apresentem maior susceptibilidade, trazendo aos programas de melhoramento menor necessidade de aplicação de recursos financeiro e humano.

Esse trabalho é de grande importância, com seus resultados afirmando que a indução de variabilidade genética é uma ferramenta a qual pode vir a ser utilizada na busca de indivíduos mais aclimatados. De grande importância em um país como o Brasil de proporções continentais que assume a posição de maior produtor, consumidor e exportador de sementes de braquiária.