

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE
PLANTAS
ANTONIO MARCOS CHIMELLO

**Variabilidade genética e avaliação da resistência
à *Olivea neotectonae* em genótipos de *Tectona grandis***

CÁCERES
MATO GROSSO - BRASIL
NOVEMBRO - 2016

ANTONIO MARCOS CHIMELLO

**Variabilidade genética e avaliação da resistência
à *Olivea neotectonae* em genótipos de *Tectona grandis***

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora: Prof^a Dr^a Leonarda Grillo Neves.

Co-Orientadora: Prof^a Dr^a Kelly Lana Araújo.

Co-Orientador: Prof. Dr. Milson Evaldo Serafim.

CÁCERES
MATO GROSSO - BRASIL
NOVEMBRO – 2016

Chimello, Antonio Marcos.

Variabilidade genética e avaliação da resistência à *Olivea neotectonae* em genótipos de *Tectona grandis*./Antonio Marcos Chimello. – Cáceres/MT: UNEMAT, 2016.

75 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado de Mato Grosso. Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, 2016.

Orientadora: Leonarda Grillo Neves

Co-orientadores: Kelly Lana Araújo e Milson Evaldo Serafim

1. Teca – variabilidade genética. 2. Teca. 3. Ferrugem da teca. I. Título.

CDU: 630*233

**VARIABILIDADE GENÉTICA E AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA
À *Olivea neotectonae* EM GENÓTIPOS DE *Tectona grandis***

ANTONIO MARCOS CHIMELLO

Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de “Mestre”.

Aprovado em 21 de novembro de 2016.

Comissão Examinadora:

Prof. Marco Antonio Aparecido Barelli (Dr. em Agronomia, área de concentração -
Melhoramento Genético Vegetal) - UNEMAT

Prof. Rafael Ferreira Alfenas (Dr. em Fitopatologia) – UFMT

Prof^a. Leonarda Grillo Neves (Dr. em Genética e Melhoramento de Plantas) –
UNEMAT
(Orientadora)

A minha família e aos meus amigos que me deram apoio e sempre me incentivaram a continuar.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pelas oportunidades e por me fazer sempre escolher o melhor caminho.

À Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT, juntamente ao Programa de Pós-Graduação de Genética e Melhoramento de Plantas pela oportunidade de ter uma graduação e Pós-Graduação.

À FAPEMAT pela concessão da bolsa que foi de grande ajuda.

Aos meus pais, Antonio e Maria que me deram a vida e destinaram tanto tempo da deles à minha, e pelos longos anos de investimento, incentivo e apoio.

As minhas irmãs Andréa e Adriana por me darem força e confiança para a realização desse sonho.

À minha noiva Lorraine por sempre estar ao meu lado sendo companheira e amiga quando eu precisava.

À minha querida orientadora, Leonarda Grillo Neves, por todo seu apoio, incentivo, paciência, e por não me deixar desistir da realização de um sonho.

Ao Prof^o Milson Evaldo Serafim e Prof^a Kelly Lana Araújo pela amizade e por toda a contribuição na execução da pesquisa.

Aos professores do programa por todo ensinamento oferecido.

À toda a minha turma do mestrado que além de colegas se tornaram grandes amigas, as quais jamais esquecerei.

Aos colegas do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal do *Campus* de Cáceres - UNEMAT e do Laboratório de Genética do *Campus* Universitário de Alta Floresta - UNEMAT, não apenas pela colaboração durante a execução da pesquisa, mas pelos bons momentos de risadas e confraternização.

À empresa PROTECA Biotecnologia Florestal, pelo fornecimento dos genótipos para a execução do trabalho.

BIOGRAFIA

Antonio Marcos Chimello filho de Antonio e Maria Chimello, nasceu no Município de Corbélia-PR no dia 19 de agosto de 1991, no ano de 1999 mudou-se para Cáceres-MT, onde veio a terminar o ensino fundamental na Escola Estadual Criança Cidadã no ano de 2005 e o ensino médio na Escola Estadual Onze de Março em 2008. Em 2009/2 passou no vestibular de Agronomia na Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT) Campus de Cáceres-MT. Durante o curso foi bolsista de iniciação científica pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) no período de 20/12/2011 a 19/12/2012, com o projeto intitulado “Caracterização físico-química dos solos de áreas de pastagens erodidas nos municípios da região sudoeste de Mato Grosso, contidos na Bacia do Alto Paraguai”, orientado pela profa. Dra. Maria Cândida Moitinho Nunes. Em agosto de 2014 foi conferido o diploma de Engenheiro Agrônomo pela Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT.

Em 2015 ingressou no Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas da UNEMAT. Durante o mestrado recebeu bolsa pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT), desenvolvendo pesquisas voltadas para Melhoramento Genético da teca visando genótipos promissores resistentes ao fungo *Olivea neotectonae*.

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. <i>Tectona grandis</i>	3
2.1.1. Distribuição geográfica	3
2.1.2. Aspectos botânicos da espécie.....	3
2.1.3. Importância Econômica	4
2.2. Ferrugem da Teca.....	5
2.3. Variabilidade Genética	6
2.3.1. Descritores morfológicos	6
2.3.2. Caracterização Molecular	7
2.3.2.1. Marcador Molecular ISSR.....	8
2.4. Melhoramento Genético da Teca	8
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	10
4. CAPÍTULOS	16
4.1 CAPÍTULO 1 – MARCADORES MOLECULARES ISSR E DESCRITORES MORFOLÓGICOS NA AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE GENÓTIPOS DE <i>Tectona grandis</i> L. f.	16
RESUMO.....	16
ABSTRACT	17
INTRODUÇÃO	18
MATERIAL E MÉTODOS	20
Descritores morfológicos.....	21
Análise estatística	23
Marcadores moleculares ISSR.....	21
Coleta, extração e quantificação do DNA	22
Seleção de <i>Primers</i> ISSR e Reações de Amplificação	22
Análise estatística	Erro! Indicador não definido.
Análise conjunta.....	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26

Caracterização Morfológica	26
Caracterização Molecular	30
Análise Conjunta dos Dados	33
CONCLUSÃO.....	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
4.2 CAPÍTULO 2 – COMPONENTES DE RESISTÊNCIA EM GENÓTIPOS DE TECA A <i>Olivea neotectonae</i> COMO CRITÉRIO DE SELEÇÃO DE GENÓTIPOS PROMISSORES.....	45
RESUMO.....	45
ABSTRACT	46
INTRODUÇÃO	47
MATERIAL E MÉTODOS	49
Inoculação.....	50
Avaliações.....	50
Análise Estatística.....	52
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
CONCLUSÃO.....	59
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
5. CONCLUSÕES GERAIS.....	63

RESUMO

CHIMELLO, ANTONIO MARCOS, M. Sc., Universidade do Estado de Mato Grosso, novembro de 2016, VARIABILIDADE GENÉTICA E AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À *Olivea neotectonae* EM GENÓTIPOS DE *Tectona grandis*. Orientadora: Leonarda Grillo Neves. Coselheiros: Kelly Lana Araújo e Milson Evaldo Serafim.

A *Tectona grandis* L. f. é uma espécie florestal e pertence à família Lamiaceae, natural da Índia, Birmânia, Tailândia e Laos, foi introduzida no Brasil por volta dos anos 70 no estado de Mato Grosso, onde esta espécie é cultivada com muito sucesso, obtendo-se uma redução do ciclo para apenas 25 a 30 anos, com obtenção de madeira para serraria de ótima qualidade, isso é devido às condições climáticas serem semelhantes às dos países de origem. Apesar dessa espécie florestal ser bastante cultivada no país, são poucos os programas de melhoramento genético da teca, principalmente visando resistência a doenças, de forma que a variação genética existente entre e dentro de populações não tem sido explorada adequadamente. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a variabilidade genética da coleção de trabalho de teca da UNEMAT, por meio de caracteres morfológicos e marcadores moleculares ISSR e identificar fontes de resistência genética (genótipos) de teca promissoras com relação a resistência a ferrugem e possibilitar o início de um programa de melhoramento de teca para as condições do Mato Grosso. Foram avaliados 30 diferentes genótipos de teca clonais em casa de vegetação proveniente da empresa PROTECA Biotecnologia Florestal, em delineamento experimental de blocos ao acaso, com três repetições e cada parcela composta por três plantas. Para o estudo da variabilidade genética por meio das características morfológicas, com base no algoritmo de Gower, foi realizada uma análise conjunta das variáveis quantitativas e qualitativas e para o estudo molecular, o DNA total de cada genótipo foi extraído e as amplificações foram feitas via PCR com o emprego de 15 *primers* de ISSR, previamente selecionados. As variáveis quantitativas, qualitativas e moleculares foram analisadas simultaneamente em conjunto, utilizando o procedimento Ward-MLM para composição dos grupos de acessos por meio do procedimento CLUSTER e IML do programa SAS e para o uso do método de agrupamento Ward, a matriz de distância foi obtida pelo algoritmo de Gower. Sendo que a técnica de agrupamento utilizado foi o da ligação média entre grupos (UPGMA), sendo que o ajuste entre a matriz de distâncias e o dendrograma

foi estimado pelo Coeficiente de Correlação Cofenética (ccc) e a utilização da técnica de otimização de Tocher. Todas as análises estatísticas foram realizadas nos programas computacionais Genes, SAS e programa R. Para a identificação de fontes de resistência genética (genótipos) de teca promissores com relação a resistência a ferrugem, foram avaliadas as seguintes características: Período latente médio, Número de pústulas por cm², Área Abaixo da Curva de Progresso do Número de Pústulas (AACPNP), Frequência de infecção e Número de urediniósporos por pústula. Os dados das características de resistência foram submetidos à análise de variância e testado a significância pelo teste F, foi realizada uma análise multivariada das características de resistência, aplicando-se as técnicas de agrupamento e de variáveis canônicas. Com o estudo da variabilidade genética, por meio da análise multivariada dos dados morfológicos (quantitativos e qualitativos), com base no algoritmo de Gower, foi possível verificar alta variabilidade genética entre os trinta genótipos de teca avaliados, sendo que por meio do método de agrupamento UPGMA, foi obtido a formação de seis grupos distintos. A partir do agrupamento pelo método de Tocher, foi verificado a formação de sete grupos, resultado diferente do apresentado pelo método UPGMA, o coeficiente de correlação cofenética foi de 0,78, sendo este valor considerado aceitável. Pelo estudo molecular foi verificado que os marcadores moleculares ISSR, revelaram a existência de alta variabilidade genética entre os trinta genótipos de teca selecionados, sendo que para os 15 *primers* ISSR selecionados foi possível uma amplificação total de 111 fragmentos, sendo 99 bandas polimórficas (89.19%), com uma média de bandas amplificadas por *primers* de 7,4. Na confecção dos grupos pelo método UPGMA foi obtida a formação de 4 grupos. Resultado diferente ao obtido pelo método de otimização de Tocher, que proporcionou a formação de apenas 2 grupos, e o coeficiente de correlação cofenética foi de 0,93. Pela análise conjunta dos dados morfológicos e molecular foi constatado que a partir do mapa de calor gerado pela matriz de dissimilaridade, o genótipo 22 é o mais divergente, pois com exceção do agrupamento dos genótipos pelo método UPGMA baseado na distância de Gower obtida pelo procedimento Ward-MLM que formou um grupo com os genótipos 9 e 30, no restante das análises encontrou-se em grupos sozinhos. Para as características de resistência a ferrugem da teca, foi observado que existe variabilidade genética entre os 30 genótipos de *Tectona grandis*, proveniente da empresa PROTECA em relação a resistência ao

fungo *Olivea neotectonae*, tanto para o método de Ligação Media entre Grupos (UPGMA) e o método de Variáveis canônicas os genótipos que apresentaram maiores resistência para o fungo *Olivea neotectonea*, foram os genótipos 03 e 10, e para a susceptibilidade houve discordância entre os métodos UPGMA e variáveis canônicas.

Palavras-chave: Variabilidade Genética, Teca, Ferrugem da Teca.

ABSTRACT

CHIMELLO, ANTONIO MARCOS, M. Sc., Universidade do Estado de Mato Grosso, november, 2016. GENETIC VARIABILITY AND RESISTANCE EVALUATION *Olivea neotectonae* IN GENOTYPES OF *Tectona grandis*. Adviser Professor: Leonarda Grillo Neves. Counselor Professor: Kelly Lana Araújo and Milson Evaldo Serafim.

The *Tectona grandis* L. f. It is a forest species and belongs to the Lamiaceae family, native to India, Burma, Thailand and Laos, was introduced in Brazil around 70 in the state of Mato Grosso, where this species is cultivated with great success, resulting in a reduction of cycle for only 25 to 30 years with obtaining wood sawmill great quality, this is due to the climatic conditions are similar to those of countries of origin. Despite this forest species is very cultivated in the country, are just the genetic improvement programs of teak, mainly targeting the resistance to disease, so that the genetic variation among and within populations has not been explored properly. Thus, the objective of this study was to evaluate the genetic variability of the collection of teak work UNEMAT through morphological and molecular markers ISSR and identify genetic resistance sources (genotypes) of promising teak with respect to resistance to rust and allow the beginning of a Teak breeding program for the Mato Grosso conditions. A total of 30 different genotypes of clonal teak in the greenhouse from the PROTECA Forest Biotechnology company, the experimental design was a randomized block design with three replications and three plants per plot. To study the genetic variability on morphologic characteristics, based on the Gower algorithm was held a joint analysis of quantitative and qualitative variables and for the molecular study, total DNA for each genotype was extracted and amplifications were made by PCR with the use of 15 primers of ISSR previously selected. Quantitative, qualitative and molecular variables were analyzed simultaneously together using the Ward-MLM procedure for composition of access groups via the CLUSTER procedure and IML SAS and using the Ward method of grouping the distance matrix was Gower obtained by the algorithm. Since the clustering technique used was the average linking groups (UPGMA), and the fit between the distance matrix and dendrogram was estimated by the correlation coefficient cophenetic (ccc) and the use of Tocher technique. All statistical analyzes were performed in computer programs Genes, SAS and R. Program for the identification of genetic resistance sources (genotypes) of promising teak with respect to resistance to rust, the following characteristics were

evaluated: average latent period, number of pustules per cm², Area Progress Curve Below the number of pustules (AACPNP), Frequency of infection and number of urediniospores by pustule. The data of resistance characteristics were subjected to analysis of variance and tested the significance of the F test, a multivariate analysis of resistance characteristics was performed by applying the cluster analysis and canonical variables. With the study of genetic variability, by multivariate analysis of morphological data (quantitative and qualitative), based on the Gower algorithm, we found high genetic variability among the thirty genotypes evaluated teak, wherein by means of the grouping method UPGMA, there was obtained the formation of six distinct groups. From the grouping of Tocher method, it was found the formation of seven groups, different result presented by UPGMA method, the cophenetic correlation coefficient was 0.78, and this value was considered acceptable. The molecular study found that molecular markers ISSR, revealed the existence of high genetic variability among the thirty selected teak genotypes, and for the 15 primers selected ISSR an overall amplification of 111 fragments was possible, 99 polymorphic (89.19%), with an average of bands amplified by primers 7.4. In the making of the groups by UPGMA method was obtained the formation of four groups. different result to that obtained by the Tocher optimization method, which provided the formation of only 2 groups, and the cophenetic correlation coefficient was 0.93. The joint analysis of morphological and molecular data revealed that from the heat map generated by the dissimilarity matrix, genotype 22 is the most divergent, because except for the grouping of genotypes by UPGMA method based on distance Gower obtained by Ward procedure -MLM who formed a group with genotypes 9:30, the rest of the analysis found himself in alone groups. For theca rust resistance characteristics, it was observed that there is significant variability among 30 genotypes teak, from the PROTECA company regarding resistance to the fungus *Olivea neotectonae*, both for the media connection method between groups (UPGMA) and the method variables canonical genotypes with highest resistance to the fungus *Olivea neotectonea* were genotypes 3 and 10, and susceptibility there was disagreement between the UPGMA methods and canonical variables.

Keywords: Genetic Variability, Teak, Rust of Teak.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A *Tectona grandis* L. f. é uma espécie florestal com grande potencial para o estado de Mato Grosso, devido às condições climáticas serem semelhantes às dos países de origem como a Índia, Birmânia, Tailândia e Laos (White, 1991; Fofana et al., 2009). A expansão dessa cultura florestal em toda a região é viável devido às altas taxas de crescimento muitas vezes superiores aos países de origem, podendo ser plantada em grandes áreas como alternativa para as indústrias madeireiras, além de ser uma alternativa para ser implantada em áreas onde já houve desmatamento (Kuboyama, 2012).

Os primeiros plantios comerciais da teca no estado de Mato Grosso foram no município de Cáceres, em 1970 (Cáceres florestal, 1997; Schulli e Paludzyszyn Filho, 2010), onde esta espécie é cultivada com muito sucesso, obtendo-se uma redução do ciclo para apenas 25 a 30 anos, com obtenção de madeira para serraria de ótima qualidade (Macedo et al., 2005; Bezerra, 2009). Atualmente a área plantada no Brasil é de aproximadamente de 88 mil ha, o estado de Mato Grosso representa 75% de valor (IBA, 2016). Um dos grandes problemas no cultivo de plantas exóticas são os problemas fitossanitários que representam uma ameaça para os produtores florestais, por isso, o desenvolvimento de conhecimentos nesse assunto e a difusão dos mesmos, é fundamental para os plantios comerciais de espécies florestais, especificamente a teca (Arguedas, 2003).

Dentre as doenças de importância econômica na cultura da teca, destaca-se a ferrugem, causada pelo fungo *Olivea neotectonae* (Pieri, 2011), que provoca desfolha intensa nas plantas, ocasionando redução da taxa fotossintética e, conseqüentemente, diminuição da produção. A ferrugem da teca caracteriza-se pelo aparecimento de manchas de coloração marrom com pústulas pulverulentas de coloração alaranjadas constituídas pela massa de urediniosporos (esporos) do patógeno (Pieri, 2011). As manifestações dos sintomas são variáveis, apresentando desde manchas necróticas de tamanhos variáveis até queima de todo limbo foliar. A maior severidade ocorre em plantas com idade entre cinco e sete anos (Arguedas, 2004).

Outra dificuldade encontrada quando se trabalha com a teca, é a falta dos descritores morfológicos para a cultura, sendo assim nota-se a necessidade de

analisar características morfológicas que possam ser utilizadas como descritores, sendo que a identificação de cada material através de características morfológicas consiste em uma análise simples, com menor custo e é essencial desde o programa de melhoramento até a proteção de cultivares (Ramos e Queiroz, 1999).

De forma geral, a seleção de genótipos superiores de teca se dá com base em suas características fenotípicas, tornando necessário o estudo de marcadores moleculares para a teca, pois segundo Fonseca e Ribeiro (1992) a caracterização morfológica juntamente à molecular propiciam um melhor conhecimento dos recursos genéticos e auxiliam para a seleção de plantas com características desejáveis. Sendo que o desenvolvimento de estratégias para o aumento da produção de sementes e mudas com qualidade e em quantidade suficiente para garantir a demanda do mercado crescente para teca no Brasil é importante até mesmo para futuros programas de melhoramento da espécie (Schuhli e Filho, 2010).

Além disso, a caracterização molecular permite melhor estimar a variabilidade genética das populações já que ela atua no DNA e assim permite uma melhor indicação de genótipos que podem ser utilizados em um programa de melhoramento. Diante do exposto, os objetivos desse trabalho foram:

- a) avaliar a variabilidade genética da coleção de trabalho de teca da UNEMAT, por meio de caracteres morfológicos, marcadores moleculares ISSR e caracteres de resistência a ferrugem.
- b) determinar caracteres morfológicos precoce que possibilitem a diferenciação de genótipos de teca, para que estes possam possibilitar a confecção de uma tabela de descritores morfológicos para a espécie;
- c) identificar fontes de resistência genética (genótipos) de teca promissores com relação a resistência a ferrugem e possibilitar o início de um programa de melhoramento de teca para as condições do Mato Grosso.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. *Tectona grandis*

2.1.1. Distribuição geográfica

Tectona grandis L. f., vulgarmente conhecida como teca, e uma espécie arbórea pertencente à família Lamiaceae (Souza e Lorenzi, 2008), segundo White (1991) e Fofana et al. (2009), é originária da Índia, Myanmar, Tailândia e Laos, com ampla distribuição geográfica no sudeste da Ásia, estando sua área de ocorrência natural com altitude em torno de 1000 m e entre floresta Úmida e Decídua Arida Mista.

As florestas naturais de teca cobrem uma área de cerca de 29 milhões de hectares, sendo que a teca é cultivada em, pelo menos, 36 países, onde os plantios com a espécie cobrem uma área de cerca de 6,887 milhões de hectares (Midgley et al., 2015).

No Brasil a teca foi introduzida na década de 30, mas os primeiros plantios comerciais iniciaram somente no final da década de 60, no município de Cáceres, Estado do Mato Grosso, pela empresa Cáceres Florestal S.A., (Cáceres Florestal, 1997; Schulli e Paludzyszyn Filho, 2010). Atualmente, a área plantada com teca no Brasil é de aproximadamente 88 mil hectares (IBA, 2016), principalmente nos Estados de Mato Grosso, Para, Rondônia e Acre.

2.1.2. Aspectos botânicos da espécie

Segundo Figueiredo et al. (2005) a teca é uma árvore de grande porte, rápido crescimento e a sua madeira é considerada nobre, de excelente qualidade. Seu tronco é reto e revestido por uma casca espessa, resistente ao fogo, ao vento e a danos mecânicos. A teca possui folhas simples, decíduas, largas e ovaladas, espessas, verde-opacas, opostas, tomentosas, ou seja, revestida de pelos na face abaxial e adaxial.

A teca possui ramificação vigorosa, formando copa globosa aberta. As folhas, inseridas em ramos quadrangulares, são decíduas, opostas elípticas ou ovais, com comprimento de 30 a 60 cm e largura de 15 a 35 cm, com face adaxial hispida, verde a verde-escura e face abaxial ligeiramente acinzentada e tomentosa. Possui flores bissexuais, cor creme, dispostas em inflorescências cimosas, grandes

e terminais. A floração é anual, intensa e inicia cerca de um mês após o começo do período chuvoso. As flores são pequenas dotadas de pedúnculo curto, de coloração branco-creme, que se dispõem em inflorescências grandes e eretas tipo panículas de até 40 x 35 cm. O fruto é do tipo drupa, cilíndricos, de cor marrom, com 1-2 cm de diâmetro, cada fruto apresenta até quatro sementes. Entretanto, a primeira frutificação ocorre aos 5 ou 6 anos de idade, sendo as sementes da teca pequenas, delicadas e oleaginosas, medindo de 5-6 mm de comprimento (Lorenzi et al., 2003; Embrapa, 2004; Carvalho, 2006; Alcântara, 2009).

A espécie é classificada como heliófita e decídua, com queda das folhas no período de menor precipitação pluviométrica. Em condições favoráveis as árvores de teca desenvolvem um tronco retilíneo com altura superior a 25 m. A casca de cor cinza ou marrom, com 12-15 mm de espessura, com ritidoma longitudinalmente fissurado e corticoso, que lhe confere elevada resistência ao fogo, podendo se desprender em placas (Cáceres Florestal, 1997; Pandey e Brown, 2000). O sistema radicular é composto por uma raiz pivotante e várias raízes laterais, que em algumas vezes penetram verticalmente no solo com mais de um metro de profundidade (Chaves e Fonseca, 1991).

2.1.3. Importância Econômica

Por possuir boa resistência em relação ao peso e estabilidade, já que praticamente não empena e pouco se contrai durante a secagem e às variações na umidade do ambiente, possibilitando estabelecer a teca como um padrão para avaliação das madeiras de todas as outras espécies (Cardoso, 1991). As boas propriedades da madeira de teca lhe conferem múltiplas aplicações. No mercado internacional, onde seu preço é elevado, o uso se restringe às aplicações mais nobres, concentrando-se em móveis para uso externo (varanda e jardim), pisos (assoalho), decoração interior e exterior (painéis de lâminas faqueadas e lambris) e construção naval - com destaque para o revestimento do convés de veleiros e iates (Cáceres Florestal, 1997; Bufulin, 2001).

A teca é considerada uma das espécies florestais mais importantes no mercado internacional, pela excelente qualidade e beleza de sua madeira que possui massa específica média de 0,54 g. cm³-1 (Blanco-Flórez et al., 2014), além disso, a teca apresenta crescimento rápido, com incremento médio anual (IMA) de 25 a 35

m³ ha⁻¹ ano⁻¹ (Shimizu et al., 2007). Essa cultura tem destaque por ser uma das principais espécies florestais cultivadas no mundo, com área plantada, em 2015, de 6,887 milhões de hectares (Midgley et al., 2015), sendo que o Brasil representa 88 mil ha (IBA, 2016). A teca pode ser utilizadas para várias finalidades, como: mobiliário, construção civil e naval, dormentes, laminas decorativas, marcenaria, mineração e madeira reconstituída (Perez e Kanninen, 2005; Alcântara, 2009). Em 2010 a produção industrial total de madeira tropical em tora nos países produtores da International Tropical Timber Organization – ITTO – foi estimada em 138 milhões de m³ (ITTO 2010), e destes, aproximadamente 2,7 milhões de m³, cerca de 2%, são de troncos de teca (FAO, 2012).

A viabilidade dos reflorestamentos com teca está no retorno econômico e no processo de produção de madeira, o qual se encontra em constante inovação tecnológica. O investimento nesta espécie florestal tem como propulsor a crescente demanda pelo produto, as exigências legais de comercialização, a disponibilidade de áreas apropriadas ao cultivo, às adequadas condições edafoclimáticas, a disponibilidade de mão de obra (Sanguino, 2009).

2.2. Ferrugem da Teca

A ferrugem da teca é causada pelo fungo *Olivea neotectonae*, pertence à classe Basidiomycota, ordem Uredinales e família Chaconiaceae (Cabral et al., 2010; Céspedes; Yepes, 2007; Ferrari, 2011; Minnis et al., 2008; Yun, 2010). Esse fungo é principalmente disseminado através do vento, mas também pode ser disseminado pelas chuvas ou ainda por meio de plantas vivas infectadas (Esquivel, 2003).

Em 1900, na Indochina Raciborsky foi a primeira pessoa a descrever o fungo *O. neotectonae* como agente causal da ferrugem da teca (Pérez et al., 2008). Nos últimos anos, a doença foi relatada no Sul, Oriente e Sudeste Asiático e diversos outros países: Panamá, Costa Rica, Equador, México, Colômbia, Cuba e Austrália (Bonaldo et al., 2011). No Brasil o primeiro relato oficial da doença foi em maio de 2009, e foi registrado no município de Sinop-MT (Bonaldo et al., 2011). Portanto é uma doença que tem aparecido com maior frequência e se não for controlado pode causar grandes danos a cultura (Hackbarth, 2014).

De acordo com Sharma et al. (1985), os sintomas da ferrugem podem ser detectados desde o estágio de plântula até árvores adultas, tendo algumas variações de acordo com a idade da planta. Em plântulas recém germinadas são observados pequenos pontos cloróticos nos cotilédones, podendo apresentar pústulas de urediniósporos. Em plantas com até dois metros de altura, os danos são observados nas folhas mais baixas (Arguedas, 2004), em plantas adultas, os sintomas são detectados em folhas mais velhas e em árvores jovens, os sinais podem ser observados desde folhas velhas, como em folhas novas e até em brotos (Sharma et al., 1985).

Em grandes árvores, as folhas velhas são mais afetadas que folhas novas. Os sintomas iniciais são áreas cloróticas com a parte abaxial variando de amarelo a castanho, em seguida, é observada a cor laranja causada pelas grandes acumulações de esporos sobre o lado abaxial das folhas (Sharma et al., 1985).

2.3. Variabilidade Genética

Segundo Giustina 2014, para que um programa de melhoramento seja iniciado é necessário que haja variabilidade genética visando à seleção de genótipos SUPERIORES. Essa variabilidade deve ser avaliada para que se conheçam os genótipos que se trabalha. Em espécies perenes, esse conhecimento é mais importante considerando que a manutenção da diversidade genética será reduzida se os plantios florestais forem estabelecidos com um ou com poucos clones vegetativamente propagados.

Este fator será especialmente representativo se todo o programa de melhoramento for baseado em um pequeno número de árvores selecionadas (Kjaer et al., 1999). A variabilidade genética só pode ser utilizada com eficiência se for avaliada e quantificada devidamente, e tal caracterização pode ser realizada por meio de descritores morfológicos e/ou moleculares (Singh, 1981).

2.3.1. Descritores morfológicos

A caracterização morfológica consiste em fornecer uma identidade para cada material através do uso de uma série de descritores botânicos facilmente visíveis e mensuráveis que permitem estudar sua variabilidade genética (Ramos e Queiroz, 1999). É uma análise simples, de baixo custo e pratica de ser realizada em campo

(Ballve et al., 1997), além de ser um pré-requisito para a proteção de cultivares (Brasil, 2011).

Para a cultivar ser passível de proteção, o atributo primário deve ser resultado de um processo de melhoramento vegetal e passar por procedimentos que atendam aos dispositivos legais, entre eles, a comprovação das suas características por meio de descritores morfológicos (Carvalho et al., 2009).

Na Lei de Proteção de Cultivares, o termo cultivar é sinônimo de variedade de planta ou variedade vegetal, que significa uma planta deliberadamente selecionada com base em características específicas e desejáveis do ponto de vista agrônômico. E por meio de uma característica (ou um conjunto delas) morfológica, fisiológica, bioquímica ou molecular, que a cultivar poderá ser identificada, permitindo sua diferenciação das demais variedades (Brasil, 2011). Essas características em questão são os descritores.

Estudos sobre caracterização de plantas de teca com base em caracteres morfológicos são escassos e restritos a caracteres da folha, tais como Lyngdoh et al. (2007), que observou 50 clones de teca na Índia e conseguiu identificar diferenças entre clones e elaborar uma chave de identificação com base em pecíolo, textura, forma da folha, do ápice e da base da folha e cor. Rawat et al. (1998) e Gugana e Surendran (2002), também caracterizaram, respectivamente, 15 clones e 21 procedências de teca na Índia, com base em praticamente as mesmas características que Lyngdoh et al. (2007), mas sem elaboração de chave de identificação. Alcantara e Souza (2007) analisaram morfológicamente quatro procedências de teca, plantadas em Cáceres, MT, e observaram semelhanças entre as plantas procedentes da Tailândia e Indonésia, e divergência destas com plantas das Ilhas Salomão.

2.3.2. Caracterização Molecular

O marcador molecular pode ser definido como sendo qualquer segmento específico de DNA correspondente a regiões expressas, ou não, do genoma ou qualquer fenótipo molecular oriundo de um gene expresso, como no caso das isoenzimas (Ferreira & Gattapaglia, 1998). Marcadores moleculares que apresentam um comportamento Mendeliano simples podem, por sua vez, ser empregados como

marcadores genéticos. Outra característica importante dos marcadores moleculares é o fato de sua herança não ser influenciada pelo meio ambiente.

Segundo Ferreira e Grattapaglia (1998), marcadores moleculares permitem gerar uma grande quantidade de informações sobre a variabilidade genética e relacionamentos filogenéticos no germoplasma utilizado pelo melhorista.

Uma das técnicas de utilização de marcadores moleculares depende da amplificação de sequências de DNA, e isso só foi possível com a invenção da tecnologia PCR (*Polymerase Chain Reaction* – Reação em Cadeia da Polimerase), concebida por Kary Mullis. Desde sua concepção, esta tecnologia causou uma verdadeira revolução na biologia. A facilidade, rapidez, versatilidade e sensibilidade da PCR, a torna particularmente eficiente para estudos genéticos moleculares envolvendo grande número de indivíduos de qualquer organismo vivo (Ferreira e Grattapaglia, 1998; Nicholas, 1999).

2.3.2.1. Marcador Molecular ISSR

O marcador molecular ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) foi desenvolvido a partir da necessidade de explorar repetições microssatélites sem a utilização de sequenciamento do DNA, sendo uma técnica baseada em PCR que tem se destacado como uma alternativa eficiente e de baixo custo para caracterização de genomas complexos (Zietkiewicz et al., 1994).

A reação de PCR-ISSR é uma técnica simples, rápida, de baixo custo, eficiente e que não requer informação prévia da sequência de DNA do organismo em estudo. O tamanho dos fragmentos amplificados varia de 200 a 2000 pb e apresentam alta reprodutibilidade, devido ao uso de iniciadores longos (16 a 25 pares de bases) que são capazes de, em uma única reação de PCR, reconhecer *loci* múltiplos no genoma para amplificar principalmente as sequências inter – microssatélites de diferentes tamanhos (Zietkiewicz et al., 1994).

2.4. Melhoramento Genético da Teca

No Brasil, são pouco os programas de melhoramento genético da teca, principalmente visando a resistência a doenças, de forma que a variação genética existente entre e dentro de populações não tem sido explorada adequadamente (Costa et al., 2012). Sendo que segundo Kretschek e Samonek (1998), o suprimento

de sementes de teca no Brasil resume-se praticamente a um fornecedor (Cáceres Florestal S.A., MT), devidamente credenciado, mas com capacidade de suprir apenas parcialmente a demanda, nota-se a necessidade de programas de melhoramento de espécies florestais como a teca.

A teca é uma espécie alógama, com taxa de cruzamento entre 95% a 98% (Kjaer; Suangtho, 1995; Kertadikara; Prat, 1995), portanto, as técnicas de melhoramento empregadas no melhoramento de outras espécies florestais alógamas podem ser aplicadas ao melhoramento genético da teca (Costa et al., 2012), entretanto a teca apresenta algumas características que devem ser superadas no melhoramento, como: produção de sementes por árvore baixa; dificuldade na obtenção de mudas por sementes; polinização controlada difícil nessa espécie e o período vegetativo é longo antes do florescimento (10 a 15 anos), fato que alonga o ciclo do melhoramento (Kaosa-ard et al., 1998).

Nesse sentido as alternativas utilizadas para o melhoramento da teca são os testes clonais no lugar dos testes de progênies, tendo em vista as dificuldades na produção de sementes e mudas seminais (Wellendorf e Kaosa-ard, 1998). Em 1965 na Tailândia foi criado o Centro de Melhoramento da Teca (Teak Improvement Center – TIC), no qual o TIC é responsável por desenvolver atividades de testes de procedências, seleção de árvores superiores, desenvolvimento de técnicas de propagação vegetativa, estabelecimento de áreas de produção de sementes, bancos clonais e pomares de sementes clonais (Wellendorf e Kaosa-ard, 1998).

Outro programa de melhoramento genético da teca que merece destaque é o programa desenvolvido pela Cooperativa de Melhoramento e Conservação Genética Florestal da Costa Rica (GENFORES), o qual iniciou um programa de melhoramento genético de teca, baseado em clonagem (Murillo et al., 2003). Sendo que segundo Murillo 2003, em 2 anos o GENFORES selecionou 218 árvores plus nas diferentes zonas de produção de sementes do país, das quais 80% estão estabelecidos em seus jardins clonais comerciais.

Nesse sentido nota-se que para o Brasil, recomenda-se, em caráter urgente, a realização de testes de procedências, progênies e clonais repetidos em alguns locais, visando formar uma rede experimental como base para um programa de melhoramento genético (Costa et al., 2012).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCANTARA, B.K. **Caracterização de diversidade genética de teca (*Tectona grandis*) em diferentes procedências usando marcadores microssatélites.** Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2009.
- ALCANTARA, B.K.; SOUZA, V.C. Identificação dos descritores morfológicos para teca (*Tectona grandis*). In: **SIMPOSIO INTERNACIONAL DE INICIACAO CIENTIFICA DA USP.** 2007, Pirassununga. São Paulo: USP, 2007.
- ANSARI, S. A.; NARAYANAN, C., WALI, S. A., KUMAR, R., SHUKLA, N., RAHANGDALE, S. K. ISSR markers for analysis of molecular diversity and genetic structure of Indian teak (*Tectona grandis* L.f.) populations. **Annals Forest Research.** 55(1): 11-23, 2012.
- ARGUEDAS, M; CHAVERRI, P; VERJANS, J. Problemas fitosanitarios en teca (*Tectona grandis* L.f.) en Costa Rica. Recursos Naturales y Ambiente. No. 41. **Revista Florestal Centro-americana:** 131-136, 2004.
- ARGUEDAS, M. La roya de la teca *Olivea neotectonae* (Rac.): consideraciones sobre su presencia en Panamá y Costa Rica. **Kurú: Revista Forestal,** Costa Rica, v. 1, n.1, p.1-16, 2004.
- ARGUEDAS, M. **Problemas fitosanitarios en teca (*Tectona grandis* L.f.) en América central: nuevos reportes.** Seminário e grupo de discussão virtual. Universidade Nacional de Heredia, Costa Rica, 2003. Disponível em: <<http://www.una.ac.cr/inis/docs/teca/temas/M.pdf>>. Acesso em: 27 jul. 2015.
- BALLVE, R.M.L.; MEDINA-FILHO, H.P.; BORDIGNO, R. Identification of reciprocal hybrids in citrus by the broadness of the leaf petiole wing. **Brazilian Journal of Genetics,** v.20, n.4, p. 697-702, 1997.
- BEZERRA, A.F. **Modelagem do crescimento e da produção de povoamentos de *Tectona grandis* submetidos a desbaste.** Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.
- BHAT KM, MA HO. Teak growers unite. **ITTO Actualidad Forestal Tropical,** v.14, p.3–5, 2004.
- BLANCO-FLÓREZ, J. et al. Caracterización de la madera joven de *Tectona grandis* L. f. plantada en Brasil. **Madera y Bosques,** Xalapa, v. 20, n. 1, p. 11-20, 2014.

BONALDO, S. M.; BARCELI, A. C.; TRENTO, R. A.; GASPAROTTO, F.; TAFFAREL, C. Relato oficial da ocorrência de *Olivea neotectonae* em teca (*Tectona grandis*) no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 3, p. 85, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Proteção de Cultivares no Brasil**. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. Brasília: Mapa/ACS, 2011. 202 p.

BUFULIN, L. J. **Avaliação técnica e financeira da implantação de povoamento de teca (*Tectona grandis* L.f.)**. 2001. 43 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) - FAMEV/Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2001.

CACERES FLORESTAL S/A. **Manual do reflorestamento da teca**. Cáceres: 1997. 30p.

CARVALHO, M. dos S. **Manual de reflorestamento**. Belém: 2006. 115p.

CARVALHO, S.I.C.; BIANCHETTI, L. de B.; REIFSCHNEIDER, F.J.B. Registro e proteção de cultivares pelo setor público: a experiência do programa de melhoramento da *Capsicum* da Embrapa Hortaliças. **Horticultura brasileira**, v.27, n.2, 2009.

CHAVES, E.; FONSECA, W. Teca (*Tectona grandis* L.f.) espécie de árbol de uso múltiple em América Central. Turrialba. **Informe Técnico**. Costa Rica: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. n. 179, 1991. 47 p.

COSTA, R. B; CHICHORRO, J. F.; SILVA, A. Z. C. **Melhoramento Genético de teca como alternativa de desenvolvimento rural**. Multitemas, Campo Grande, MS, n. 42, p. 87-99, 2012.

CRUZ, C. D. GENES: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**. 35: 271-276, 2013.

EMBRAPA - Embrapa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Silvicultura de espécies florestais em Rondônia**. 2004. Disponível em: <<http://www.cpafrro.embrapa.br/embrapa/bases/teca.htm>>. Acesso em: 12 jan. 2017.

ESQUIVEL, E. La roya de la teca (*Tectona grandis* L.; Verbenaceae) causada por *Olivea neotectonae* (T.S. & K. Ramak) Mulder (Chaconiaceae) en Panamá – primer reporte en América. Hoja Informativa Técnica sobre Ciencias Agrícolas en la República de Panamá, **Agrociencia Panamensis**, v. 3, n. 4. 2 p., 2003.

FERREIRA, M.; GATTAPAGLIA D. Introducción al uso de marcadores moleculares em el análisis genético. 1 ed. Brasília: EMBRAPA CENARGEN, p. 220, **EMBRAPA CENARGEN Documento 20**, 1998.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 220p, 1999.

FIGUEIREDO, E.O. Avaliação de Modelos pelo método da curva media para a construção de curvas de índice de sitio para *Tectona grandis* L.f. **Embrapa Acre: boletim de pesquisa e desenvolvimento**, n. 42, 2005.

FOFANA, I.J.; OFORI, D.; POITEL, M.; VERHAEGEN, D. Diversity and genetic structure of teak (*Tectona grandis* L.f) in its natural range using DNA microsatellite markers. **New Forests**, v.37, n.2, p. 175-195, 2009.

FONSECA, C. E. L. da; RIBEIRO, J. F. Fruteiras do cerrado: estágio atual e perspectivas futuras. In: **SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS**, 1992, Cruz das Almas. Cruz das Almas: Embrapa/CNPMF/SBF, 1992. p. 63-75.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). **Teak resources and market assessment 2012** (*Tectona grandis* Linn. F.) 2012. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/015/an537e/an537e00.pdf>> Acesso em: 26/07/2015.

GIUSTINA, L. D. **Avaliação da variabilidade genética de genótipos de teca (*Tectona grandis* Linn. F.) por meio de marcadores moleculares**. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade do estado de Mato Grosso, Alta Floresta, 2014.

GRIFFITHS, H.M. & JONES, D.G. Components of partial resistance as criteria for identifying resistance. *Annals of Applied Biology* 110:603-610. 1987.

GUGANA, R.P.; SURENDRAN, T. Leaf morphological variations in teak (*Tectona grandis*L.f.) clones. **Evergreen**, 2002.

HACKBARTH, A. C.; BONALDO, S. M.; TRENTO, R. A.; RIBEIRO, A. S. **Influência da concentração, do fotoperíodo e da temperatura de armazenamento na germinação de urediniósporos de *Olivea tectonae***. *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 30, n. 2, p. 340-348, Mar. 2014.

Indústria brasileira de árvores (IBA). **Relatório Anual 2016 – na base 2015**. Indústria brasileira de árvores: Brasília, 2016. 100p.

International Tropical Timber Organization (ITTO). **Annual review and assessment of the world timber situation 2010.** Disponível em: <http://www.itto.int/annual_review. Acesso em: 31/08/2012.> Acessado: 26/07/2015.

KAOSA-ARD, A.; SUANGHO, V.; KJAER, E. D. Genetic improvement of teak (*Tectona grandis*) in Thailand. *Forest Genetic Resources*, n. 26, p. 21-29, 1998.

KENDRICK, B. The Fifth Kingdom. 2da Ed. Sidney, CA, Mycologue Publications. 414 p., 1992.

KERTADIKARA, A. W. S.; PRAT, D. Genetic structure and mating system in teak (*Tectona grandis*) provenances. *Silvae Genetica*, v. 44, p. 104-110, 1995.

KJAER, E. D.; SUANGTHO, V. Outcrossing rate of teak (*Tectona grandis*). *Silvae Genetica*, v. 44, p. 175-177, 1995.

KJAER, E. D.; KAOSA-ARD, A.; SUANGTHO, V. **Domestication of teak through tree improvement. Options, possible gains and critical factors.** Chiang Mai University, Thailand: Proceedings from „Teak productivity, site selection and genetic improvement“ Teak Net meeting, Jan. 1999. Disponível em: <http://130.225.42.200/dfsc/pdf/Publications/Domestication.pdf>. Acesso em: 20, outubro, 2012.

KRETSCHKEK, O. E.; SAMONEK, E. C. **O potencial da teca (*Tectona grandis*) para plantios – uma abordagem prática.** In: GALVÃO, A. P. M. (Coord.). *Espécies não tradicionais para plantios com finalidades produtivas e ambientais*. Colombo: Embrapa Florestas, 1998, p. 33-39.

KUBOYAMA, F. A. Q. **Crescimento de *Tectona grandis* L.f. em dois povoamentos no município de Mimoso do Sul, Espírito Santo.** Jerônimo Monteiro, Espírito Santo: Universidade Federal do Espírito Santo Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Ciências Florestais e da Madeira. 2012. (Trabalho de Conclusão de Curso).

LORENZI, H.; SOUZA, H.M.; TORRES, M.A.V.; BACHER, L.B. **Arvores exóticas do Brasil: madeireiras, ornamentais e aromáticas.** Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2003. 384 p.

LYNGDOH, N. GUGANA, R.P; VADUSEVA, R. Delineation of teak (*Tectona grandis*L.f.) clones through leaf descriptors. *Indian Journal of Forestry*, v.30, n.1, p.21-28, 2007.

MACEDO, R. L. G.; GOMES, J. E.; VENTURIN, N.; SALGADO, B. G. Desenvolvimento inicial de *Tectona grandis* L.f. (teca) em diferentes espaçamentos no município de Paracatu, MG. **Cerne**, Lavras, v. 11, n. 1, p. 61-69, 2005. Disponível em: <<http://redalyc.uaemex.mx/pdf/744/744111107.pdf>>. Acesso em: 27 jul. 2015.

MASSOJA JUNIOR, N. S.; KRUGNER, T. L. Fungos fitopatogênicos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia**, vol.1: Princípios e conceitos. 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. 704p.

MURILLO, O.; ROJAS, J. L.; BADILLA, Y. *Reforestación Clonal*. 2. ed. Cartago, Costa Rica: Taller Publicaciones. Instituto Tecnológico de Costa Rica, 2003.

NICHOLAS, F. W. Introdução à genética veterinária; Trad. Rivo Fisher – Porot Alegre: **Ed. Artes Médicas Sul Ltda**, 1999.

PANDEY, D.; BROWN, C. Teak: a global overview. **Unasyiva**, v.51, n.1, p.3-13, 2000.

PEREZ, D.; KANNINEN, M. Stand growth scenarios for *Tectona grandis* plantations in Costa Rica. **Forest Ecology and Management**, v.210, p.425–44, 2005.

PÉREZ, M.; LÓPEZ, M. O.; MARTÍ, O. *Olivea neotectonae*, leaf rust of teak, occurs in Cuba. **New Disease Reports**, v. 17, p. 32, 2008.

PIERI, C.; PASSADOR, M. M.; FURTADO, E. L.; JUNIOR, A. A. C. Ferrugem da teca (*Olivea neotectonae*): novas ocorrências no Brasil e revisão do nome específico, **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 37, n. 4, p. 199-201, 2011.

RAMOS, S.R.R.; QUEIROZ, M.A. Caracterização morfológica: experiência do BAG de cucurbitáceas da Embrapa Semi-Arido, com acessos de abóbora e moranga. **Horticultura Brasileira**, v.17, suplemento, p.9-12, 1999.

RAWAT, M.S.; UNIYAL, D.P.; SHARMA, S.L. Identification of provenances based on leaf morphology in *Tectona grandis*. **Indian Forester**, 1998.

SANGUINO, A. C. Custos de implantação e rentabilidade econômica de povoamentos florestais com teca no estado do Pará. **Revista Ciência Agrária**, Belém, n. 52, p. 61-78, 2009.

SCHULLI, G.G.; PALUDZYSZYN FILHO, E. O cenário silvicultural da teca e perspectivas para o melhoramento genético. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v.30, n.63, p.217-230, 2010.

- SCHUHLLI, G. S. e FILHO, E. P. **O cenário da silvicultura de teca e perspectivas para o melhoramento genético**. Pesquisa Florestal Brasileira, Colombo: Embrapa Florestas, v. 30, n. 63, p. 217-230, 2010.
- SHARMA, J.K.; MOHANAN, C.; FLORENCE, E.J.M. Disease survey in nurseries and plantations of forest tree species grown in Kerala, **Kerala Forest Research**, India, v. 36, 275p., 1985.
- SHIMIZU, J. Y.; KLEIN, H.; OLIVEIRA, J. R. V. **Diagnóstico das plantações florestais em Mato Grosso**. Cuiabá: Central de texto, 2007. 63 p.
- SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **The Indian Journal of Genetic and Plant Breeding**. 41: 237-245, 1981.
- SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerogamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008, São Paulo, 703 p.
- VERHAEGEN, D.; FOFANA, I.J.; LOGOSSA, Z.A.; OFORI, D. What is the genetic origin of teak (*Tectona grandis* L.) introduced in Africa and in Indonesia? **Tree Genetics & Genomes**, v.6, p.717-733, 2010.
- WELLENDORF, H.; KAOSA-ARD, A. Teak improvement strategy in Thailand. *Forest Tree Improvement*, v. 21, p. 1-43, 1988.
- WHITE, K. Teak, some aspects of research and development. **FAO Regional Office for Asia and the Pacific**, publication 1991/17, Bangkok, 1991, 53 p.
- ZIETKIEWICZ, E; RAJALSKI, A; LABUDA, D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) – anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomics**, 20:176–183, 1994.

4. CAPÍTULOS

4.1 CAPÍTULO 1 –

DESCRITORES MORFOLÓGICOS E MARCADORES MOLECULARES ISSR NA AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE GENÓTIPOS DE *Tectona grandis* L. f.

RESUMO

O objetivo do presente trabalho é avaliar a variabilidade genética do banco de germoplasma da teca, por meio de caracteres morfológicos e marcadores moleculares ISSR. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com três repetições e cada parcela foi composta por três plantas, foram avaliados 30 diferentes genótipos de teca clonais selecionados. Para a determinação da variabilidade genética por meio das características morfológicas, com base no algoritmo de Gower, foi realizado uma análise conjunta das variáveis quantitativas e qualitativas. Para o estudo via análise molecular, o DNA total de cada genótipo foi extraído e as amplificações foram feitas via PCR com o emprego de 15 *primers* de ISSR, previamente selecionados. As variáveis quantitativas, qualitativas e moleculares foram analisadas simultaneamente em conjunto, utilizando o procedimento Ward-MLM para composição dos grupos de acessos por meio do procedimento CLUSTER e IML do programa SAS e para o uso do método de agrupamento Ward, a matriz de distância foi obtida pelo algoritmo de Gower. A análise conjunta dos dados pelo procedimento estatístico Ward-MLM concluiu que há variabilidade genética entre os 30 genótipos de teca. O método de Gower foi eficiente, demonstrando que a análise simultânea de dados qualitativos e quantitativos é viável de variabilidade entre genótipos de teca. O genótipo 22 mostrou ser o mais divergente, pois com exceção do agrupamento dos genótipos pelo método UPGMA baseado na distância de Gower obtida pelo procedimento Ward-MLM que formou um grupo com os genótipos 9 e 30, nas análises restante foi alocado em grupos separado.

PALAVRAS-CHAVE: Análise conjunta, algoritmo de Gower, Índice de Conteúdo Polimórfico.

**ISSR MOLECULAR MARKERS AND KEY WORDS IN MORPHOLOGICAL
EVALUATION OF GENETIC VARIABILITY GENOTYPES *Tectona grandis* L. f.**

ABSTRACT

The objective of this study is to evaluate the genetic variability of teak germplasm bank, through morphological and molecular markers ISSR. The experimental design was a randomized block design with three replications and each plot consisted of three plants were evaluated 30 different selected clonal teak genotypes. To determine the genetic variability on morphologic characteristics, based on the Gower algorithm was held a joint analysis of quantitative and qualitative variables. For the study via molecular analysis, total DNA was extracted from each genotype and amplifications were made by PCR with the use of 15 ISSR primers previously selected. Quantitative, qualitative and molecular variables were analyzed simultaneously together using the Ward-MLM procedure for composition of access groups via the CLUSTER procedure and IML SAS and using the Ward method of grouping the distance matrix was Gower obtained by the algorithm. The analysis of data by Ward-MLM statistical procedure concluded that there is genetic variability among 30 genotypes of teak. The Gower method was effective, demonstrating that the simultaneous analysis of qualitative and quantitative data is feasible variability between teak genotypes. Genotype 22 proved to be the most divergent, because with the exception of the clustering structure UPGMA method based on the distance Gower obtained by Ward-MLM procedure formed a group having the genotypes 9 and 30, the remaining analysis was allocated separate groups.

KEYWORDS: Joint Analysis, Gower Algorithm, Polymorphic Content Index.

INTRODUÇÃO

Considerando que a madeira é um dos materiais mais usados pelo homem e com o aumento da procura de matéria-prima para os diversos setores, as espécies de rápido crescimento vêm ganhando um papel importante para o suprimento de madeira, tendo em vista os altos índices de desmatamento a nível mundial (FAO, 2009). Uma espécie que tem se destacado nesse setor, é a teca (*Tectona grandis* L.f) que é uma das espécies mais cultivadas no mundo, e caracteriza-se por ser uma das madeiras mais valiosas, devido às suas excelentes propriedades físicas e usos diversos como: na construção naval, fabricação de móveis, entre outros (Cáceres Florestal, 1997).

Segundo Cruz e Carneiro (2006), estudar a variabilidade genética é uma atividade de grande relevância para o melhoramento de plantas e para a conservação de muitas espécies. Por meio desse conhecimento, é possível identificar genótipos contrastantes, com características de interesse, como fontes de resistência a doenças e alta produtividade, podendo utiliza-los em programas de melhoramento. A variabilidade genética pode ser verificada pelo uso de diversos tipos de descritores, como os morfológicos, agronômicos, bioquímicos e moleculares (Cruz e Carneiro, 2006).

O uso de técnicas multivariadas é um dos fatores que tem impulsionado o aumento nos estudos sobre divergência genética entre acessos de bancos ativos de germoplasma, onde podemos destacar o método aglomerativo que tem como princípio reunir os genótipos em grupos, de tal forma que haja homogeneidade dentro destes e heterogeneidade entre os mesmos. Esta metodologia depende do cálculo das medidas de dissimilaridade provenientes de variáveis quantitativas e qualitativas (Cossa e Franco, 2004).

A técnica que permite a análise simultânea de dados quantitativos e qualitativos foi proposta por Gower (1971), este método permite que valores da matriz de distância fiquem compreendidos entre 0 e 1, sendo necessária a padronização das variáveis quantitativas e qualitativas. Vários estudos realizados como com *Brassica napus* L. (Rodriguez et al., 2005), com *Triticum aestivum* L. (Vieira et al., 2007) e com *Solanum lycopersicum* (Gonçalves et al., 2008), utilizaram o algoritmo de Gower.

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho é avaliar a variabilidade genética do banco de germoplasma da teca, por meio de caracteres morfológicos e marcadores moleculares ISSR.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Campus Universitário de Cáceres da Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, 16 ° 11' 42" de latitude Sul e 57° 40' 51" de longitude Oeste, a 210 km de Cuiabá.

Os genótipos avaliados são clones selecionados, proveniente da empresa PROTECA Biotecnologia Florestal (Tabela 1). A PROTECA Biotecnologia Florestal é uma empresa especializada na propagação clonal da teca a mais de 10 anos e detém uma coleção exclusiva de genótipos superiores desta espécie florestal.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com três repetições e cada parcela foi composta por três plantas, foram avaliados 30 diferentes genótipos de teca clonais selecionados em casa de vegetação.

As mudas foram plantadas inicialmente com 10 cm de alturas em vasos de 2 litros contendo uma mistura de solo e areia na proporção de 3:1. A adubação foi realizada uma vez por semana utilizando 100 mL de solução nutritiva (Clarck, 1975). A irrigação foi realizada manualmente com nebulizações de 3 segundos a cada 10 min.

Tabela 1. Identificação dos 30 genótipos de Teca selecionados provenientes da PROTECA Biotecnologia Florestal

Tratamento	Identificação dos Clones	Origem/procedência	Tratamento	Identificação dos Clones	Origem/procedência
1	A2	Ilhas Salomão	16	B17	Brasil
2	A3		17	C1	Malásia
3	A4		18	C2	
4	A6		19	C5	
5	A7		20	D2	Índia
6	A8		21	D3	
7	A9		22	D4	
8	A10		23	E2	Indonésia
9	A11		24	E4	
10	A12		Brasil	25	G1
11	B2	26		G2	
12	B6	Brasil	27	J1	Gana
13	B8		28	J2	
14	B14		29	T4	Tanzânia
15	B16		30	T8	

Descritores morfológicos

Para a determinação das características morfológicas das mudas de teca, foram coletados 120 dias após o transplante amostra composta por folhas novas, em desenvolvimento e desenvolvidas, totalizando 6 folhas de cada planta: duas do terço superior, duas do terço médio e duas do terço inferior.

As avaliações foram separadas em dados quantitativos e qualitativos. Para os dados quantitativos foram analisados: altura da planta (ALT), diâmetro do caule (D^2), massa verde e seca da parte aérea (MAV e MAS) e raiz (MRV e MRS), comprimento e largura do limbo foliar (CF e LF), pilosidade abaxial e adaxial (PAB e PAD).

Para os dados qualitativos foram analisados: quanto a forma do limbo foliar (FL), a forma da base (FB) e do ápice foliar (FA), margem da folha (ML), cor da face adaxial da folha (CAD) e presença ou ausência de pecíolo. As avaliações e observações foram acompanhadas de registros fotográficos.

A determinação das características morfológicas foi adaptada de Miranda, (2013), que trabalhou com a caracterização morfológica e avaliação do desenvolvimento inicial de clones de teca (*Tectona grandis* L.f.). Onde a escolha dos caracteres avaliados foi baseada na tabela de descritores para *Eucalyptus* e para *Hevea* (Brasil, 2011); nos trabalhos realizados por Rawat et al. (1998), Gugana e Surendran (2002), Lyngdoh et al. (2007) e Alcantara e Souza (2007); e em trabalhos semelhantes realizados com outras espécies de interesse agrônomico (Nascimento, 2008; Andrade et al., 2009; Gomes Filho et al., 2010; Pinto et al., 2010; Madail et al., 2011).

Para a caracterização das expressões morfológicas foram utilizados os trabalhos, Vidal e Vidal (2003) e da União Internacional para Proteção de Obtenções Vegetais – UPOV (UPOV, 2010).

Marcadores moleculares ISSR

Para o estudo de variabilidade genética de 30 genótipos clonais de teca, foi utilizado o marcador molecular ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*), por ser uma técnica simples, rápida, de baixo custo, eficiente e que não requer informação prévia da sequência de DNA do organismo em estudo.

Coleta, extração e quantificação do DNA

Foram coletadas folhas jovens, expandidas e sadias de cada um dos genótipos selecionados. Cada folha, isoladamente, foi envolta em papel alumínio para o transporte da casa de vegetação até o Laboratório de Genética do *Campus* Universitário de Alta Floresta - UNEMAT, aonde foi realizado as análises moleculares.

No Laboratório, o DNA genômico foi extraído segundo o método CTAB (3% CTAB, 1,4 mol L⁻¹ NaCl, 0,02 mol L⁻¹ EDTA, 0,1 mol L⁻¹ Tris-HCl (pH 8,0) e 3% b-mercaptoetanol) descrito por Doyle e Doyle (1990), modificado com base em Alcântara et al. (2008). A qualidade e a concentração do DNA extraído foram confirmadas por eletroforese em gel de agarose 0,8%. A concentração foi comparada através de pesos moleculares de DNA padrão (*lambda*) com amplitude de variação de 10, 20, 50 e 100 ng. O DNA quantificado foi diluído para a obtenção das soluções de trabalho.

Seleção de *Primers* ISSR e Reações de Amplificação

Inicialmente foram realizados testes de amplificação em três genótipos de teca em 38 *primers* ISSR desenvolvidos pela *University of British Columbia* (UBC) (Tabela 2), com base nos padrões de bandeamento para intensidade, polimorfismo e repetitividade, foram selecionados 15 *primers* para as reações de PCR.

As reações de amplificação via PCR, foram realizadas em termociclador Biocycler com um volume final de 20 µL, sendo 1 µL de DNA (\pm 20 ng), 2 µL de tampão 10x (1M KCl; 1M Tris pH 8.3; 1M MgCl₂; 10% Tween 20), 2 µL de MgCl₂ (25 mM), 3 µL de *primer* (0,2 mM), 4 µL dNTP (0,1 mM de cada dNTP), 1 µL DMSO e 0,2 µL de Taq polimerase (5U/µl). O programa de amplificação foi proposto por Narayanan et al. (2006), sendo: um ciclo de desnaturação de 94°C por 3 min; 30 ciclos de 94°C por 30 s, 45-60.3°C (dependendo da temperatura do *primer*) por 30 s e 72°C 1 min; um ciclo de extensão final de 72°C por 10 min.

Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,5% em tampão de corrida TBE 1X, com voltagem constante de 85 V por aproximadamente seis horas. Os tamanhos dos fragmentos amplificados foram estimados, por comparação, com o marcador molecular de 100 pb DNA Ladder. A coloração do gel foi realizada com brometo de etídeo (0,6 ng mL⁻¹). Em seguida os

géis foram visualizados em transiluminador UV e foto documentados com câmera digital.

Tabela 2. Lista de *primers* testados para a caracterização molecular dos 30 genótipos de teca

Nome do Primer	Sequência (5'-3')	TM (°C)	Nome do Primer	Sequência (5'-3')	TM (°C)
UBC 807*	(AG) ₈ T	47	UBC 861*	(ACC) ₆	60.6
UBC 808	(AG) ₈ C	48.8	DiCA(YG)	(CA) ₈ YG	58.8
UBC 810*	(GA) ₈ T	45.4	DiCA(CR)	(CA) ₈ CR	58.8
UBC 811*	(GA) ₈ C	48	DiCA(CY)	(CA) ₈ CY	58.8
UBC 812	(GA) ₈ A	48	DiCA(C)	(GA) ₈ C	57.2
UBC 816	(CA) ₈ T	48	DiCA(RC)	(GA) ₈ RC	58.8
UBC 817*	(CA) ₈ A	50.3	TriCAC(RC)	(CAC) ₈ RC	63.2
UBC 818*	(CA) ₈ G	51	TriGTG	(GTG) ₈	58.9
UBC 826*	(AC) ₈ C	48	TriGTG(YC)	(GTG) ₈ YC	63.2
UBC 827*	(AC) ₈ G	53	TriGTG(CY)	(GTG) ₈ CY	63.2
UBC 828	(TG) ₈ A	51.3	TriAAG(RC)	(AAG) ₈ RC	51.2
UBC 830*	(TG) ₈ G	52.7	TriACA(RC)	(ACA) ₈ RC	51.2
UBC 835*	(AG) ₈ YC	50.2	TriAGG(RC)	(AGG) ₈ RC	63.2
UBC 840*	(GA) ₈ YT	47.4	TriTCA(RC)	(TCA) ₈ RC	51.2
UBC 841*	(GA) ₈ YC	43	TriTCC(RC)	(TCC) ₈ RC	63.2
UBC 842*	(GA) ₈ YG	48.8	TriTGA(RC)	(TGA) ₈ RC	51.2
UBC 855*	(AC) ₈ YT	49	TriCAT(RC)	(CAT) ₈ RC	63.2
UBC 856	(AC) ₈ YA	51	TriCGA(RC)	(CGA) ₈ RC	51.2
UBC 857*	(AC) ₈ YG	52	TriGAA(RC)	(GAA) ₈ RC	51.2

*= *primers* utilizados; Y = C ou T; R = A ou G; V = A, C ou G; H = A, C ou T; TM = Temperatura de anelamento referente ao *primer*.

Análise dos dados

Para os dados morfológicos, foi realizado com base no algoritmo de Gower (1971), uma análise conjunta das variáveis quantitativas e qualitativas para estimar a matriz de distância genética, expresso pela equação:

$$S_{ij} = \frac{\sum_{k=1}^p W_{ijk} \cdot S_{ijk}}{\sum_{K=1}^p W_{ijk}}$$

em que: K é o número de variáveis ($k = 1, 2, \dots$; p =número total de características avaliadas); i e j , dois indivíduos quaisquer; W_{ijk} é um peso dada a comparação ijk , atribuindo valor 1 para comparações válidas e valor 0 para comparações inválidas (quando o valor da variável está ausente em um ou ambos indivíduos); S_{ijk} é a contribuição da variável k na similaridade entre os indivíduos i e j , possuindo valores entre 0 e 1. Para uma variável nominal, se o valor da variável k é a mesma para ambos os indivíduos, i e j , então $S_{ijk} = 1$, caso contrário, é igual a 0; para uma variável contínua $S_{ijk} = 1 - |x_{ik} - x_{jk}| / R_k$ em que x_{ik} e x_{jk} são os valores da variável k para os indivíduos i e j , respectivamente, e R_k é a amplitude de variação da variável k na amostra. A divisão por R_k elimina as diferenças entre escalas das variáveis, produzindo um valor dentro do intervalo $[0, 1]$ e pesos iguais.

A técnica de agrupamento utilizado foi o da ligação média entre grupos (UPGMA), sendo que o ajuste entre a matriz de distâncias e o dendrograma foi estimado pelo Coeficiente de Correlação Cofenética (CCC) (Sokal e Rohlf, 1962) e a utilização da técnica de otimização de Tocher.

Para as características moleculares os fragmentos de ISSR (produtos de amplificação) foram analisados e codificados como caracteres binários: presença (1) ou ausência (0) de bandas.

Para obtenção da matriz de dissimilaridade foi utilizado o complemento aritmético do Índice de Jaccard. A partir da matriz de dissimilaridade foi possível realizar o agrupamento dos genótipos pelo método de otimização de Tocher, e a construção de um dendrograma utilizando o método de agrupamento da ligação média entre grupos (UPGMA) sendo que o ajuste entre a matriz de distâncias e o dendrograma foi estimado pelo Coeficiente de Correlação Cofenética (CCC) (Sokal e Rohlf, 1962).

A diversidade genética do loco foi estimada com base no Índice de Conteúdo Polimórfico (PIC), que é uma estimativa utilizada para a avaliação do poder discriminatório de um loco.

A informatividade do loco p_i é a frequência do alelo p no loco p_i , calculado pela equação: $PIC = 1 - \sum p_i^2$, e a informatividade do *primer* p_{ij} é a frequência do

alelo p do loco i, no *primer* j, sendo calculada pela equação: $PIC_{primer} = 1 - \sum_i \cdot \sum_j p_{ij}^2$ (Rezende et al., 2009).

O PIC representa a existência de variabilidade, a qual será maior com valores mais altos de PIC. Assim, marcadores ISSR que apresentam essa característica são os mais indicados para estudos de variabilidade (Ribeiro, 2011).

Todas as análises estatísticas dos dados morfológicos e moleculares foram realizadas no programa computacional Genes (Cruz, 2013).

Análise conjunta

As variáveis quantitativas, qualitativas e moleculares foram analisadas simultaneamente em conjunto, utilizando o procedimento Ward-MLM para composição dos grupos de acessos por meio do procedimento CLUSTER e IML do programa SAS (SAS Institute, 2009). Para uso do método de agrupamento Ward, a matriz de distância foi obtida pelo algoritmo de Gower (Gower, 1971).

A definição do número ideal de grupos foi realizada de acordo com os critérios do pseudo-F e pseudo-t², combinado com o perfil da verossimilhança, associado com o teste da razão da verossimilhança. A estratégia Ward-MLM consiste em duas fases, sendo que, na primeira fase, os grupos são definidos pelo método de agrupamento Ward (Ward, 1963), usando a matriz de dissimilaridade de Gower (Gower, 1971), na segunda fase, a média do vetor das variáveis quantitativas para cada grupo, independentemente dos valores da variável qualitativa, sendo estimados pelo procedimento MLM.

A distância adaptada por Franco et al. (1998), para a distribuição das variáveis conjuntas (quantitativas, qualitativas e moleculares), foi usada para a determinação da dissimilaridade entre os grupos formados. Para expressar a variabilidade entre os genótipos foram utilizados as variáveis canônicas e o método de agrupamento UPGMA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização Morfológica

Entre as variáveis qualitativas analisadas que variaram foram: a forma do limbo foliar, forma do ápice do limbo e a presença ou ausência de pecíolo, entretanto as características, forma da base, margem da folha e cor da face adaxial da folha não houve dissimilaridade entre os genótipos.

Entre os 30 genótipos de teca avaliados, foi observado a forma do limbo foliar entre elítica e obovada (Figura 1); a forma da base da folha foi encontrado somente o tipo atenuada; a margem da folha também não houve diferença entre os genótipos, sendo a forma encontrado foi a ondulada; a cor da face adaxial da folha foi a de verde escuro e a variáveis que mais divergiu foi a forma do ápice, sendo encontrado as formas: cuspidado, retuso e obtuso (Vidal e Vidal, 2003).

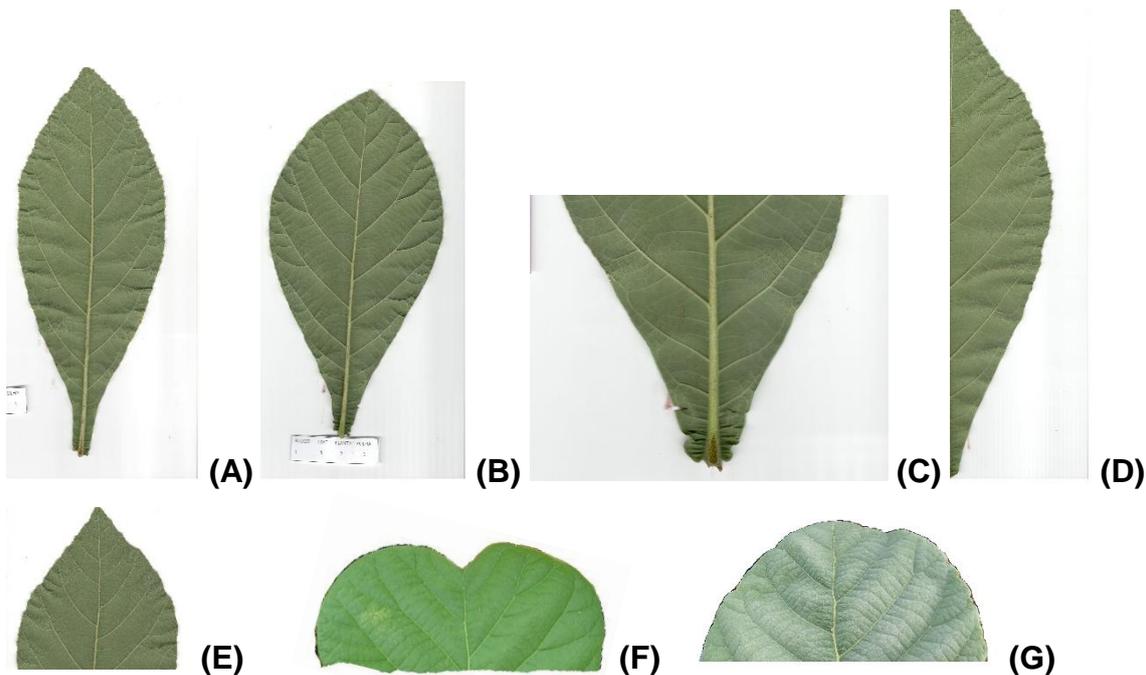


Figura 1. Formas das folhas de *Tectona grandis* L. f. encontrados no presente trabalho: **(A)** forma do limbo elítica; **(B)** forma do limbo obovada; **(C)** forma da base da folha atenuada; **(D)** margem da folha ondulada; **(E)** forma do ápice cuspidado; **(F)** forma do ápice retuso e **(G)** forma do ápice obtuso.

Resultado semelhante ao encontrado por Miranda 2013, que trabalhando com a caracterização morfológica e avaliação do desenvolvimento inicial de clones de teca (*Tectona grandis* L. f.), encontrou plantas com a forma da folha entre elíptica,

em folhas mais jovem, e oval, em folhas maiores e maduras; ápice com formato do tipo agudo caudado e margem do tipo ondulada.

Todos os genótipos apresentaram pilosidade serício, glandular e híspido intensa na face abaxial e pilosidade glandular e híspido na face adaxial (Figura 2). Foi observado maior ocorrência de tricomas glandulares e hípidos na face abaxial das folhas de teca, que na face adaxial, além dos tricomas glandulares, Fermino Junior e Scherwinski-Pereira 2009, observaram a ocorrência de tricomas glandulares peltados e tricomas tectores em folhas de *Tectona grandis* L. f.

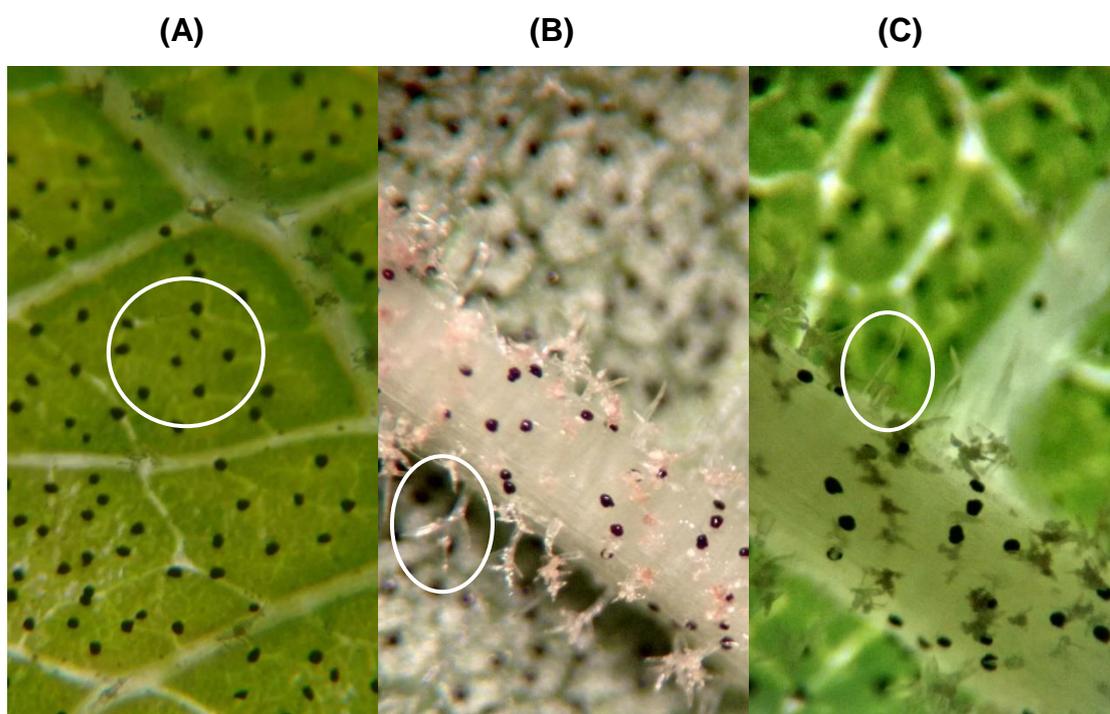


Figura 2. Pulosidade observada em folhas de *Tectona grandis* L. f.: **(A)** Glandulares; **(B)** Serícios e **(C)** Híspidos.

Por meio da análise multivariada, com base no algoritmo de Gower (1971), foi possível verificar alta variabilidade genética entre os trinta genótipos de teca avaliados, sendo que por meio do método de agrupamento UPGMA, foi obtido a formação de seis grupos distintos (Figura 3).

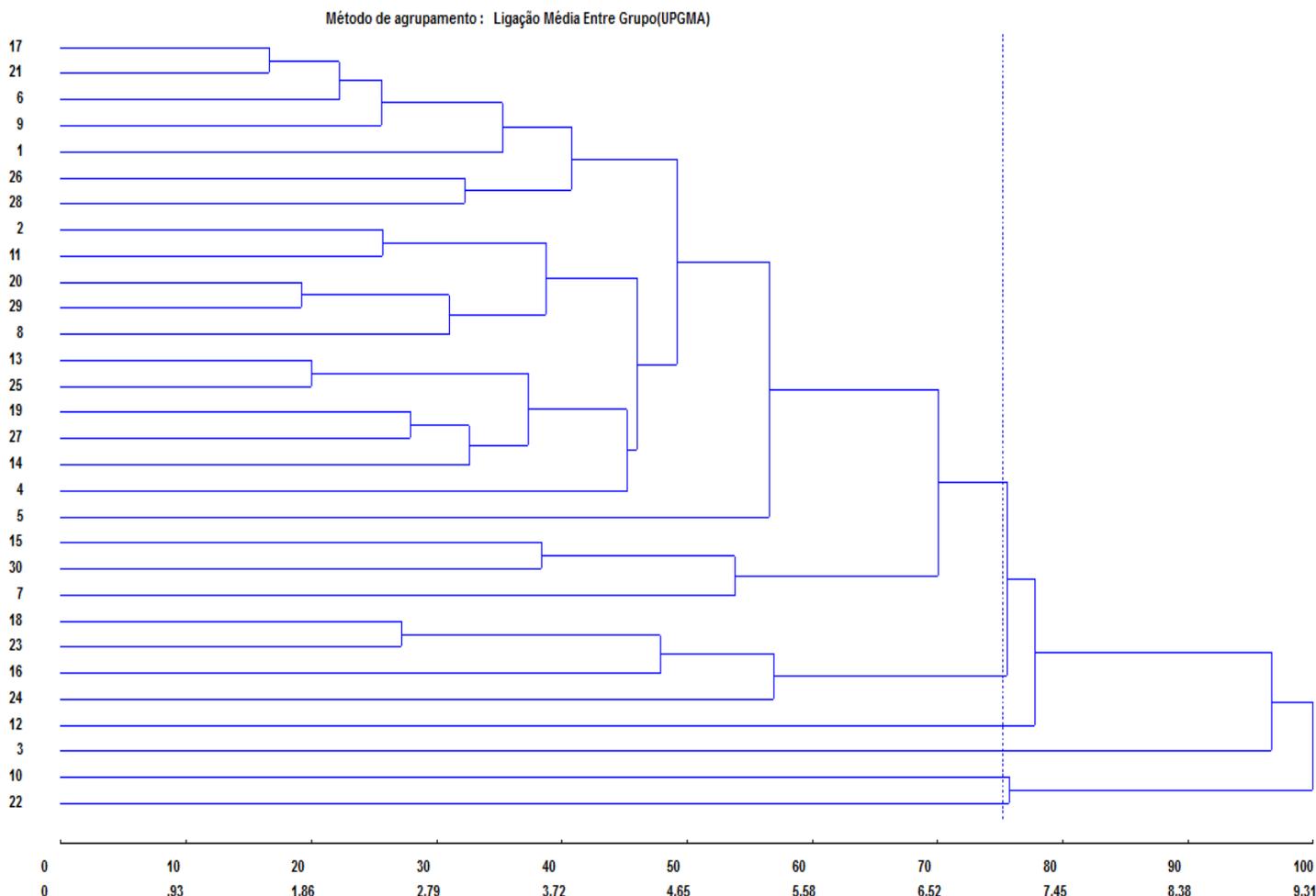


Figura 3. Dendrograma representativo da variabilidade genética entre os 30 genótipos de teca, obtido pelo método de agrupamento UPGMA, utilizando o algoritmo de Gower como medida de dissimilaridade.

O primeiro grupo formado representou o maior número de genótipos (22 genótipos), demonstrando que estes materiais possuem características morfológicas similares, sendo que este resultado reduz as perspectivas de utilização destes materiais, combinados entre si, em programas de melhoramento desta cultura. O grupo II foi composto pelos genótipos 18, 23, 16 e 24, esses genótipos demonstraram várias características em comum, como a forma do ápice nas folhas superiores e mediana, a ausência de pecíolo e a forma do limbo nas folhas inferiores.

Os grupos III, IV, V e VI foram formados por um genótipo cada, que foram os genótipos 12, 03, 10 e 22 respectivamente, este resultado revela que estas variedades possuem uma alta dissimilaridade com relação aos demais genótipos

estudados, sendo os mais promissores para utilização em programas de melhoramento devido os mesmos serem fenotipicamente divergentes aos demais genótipos. Resultado semelhante ao encontrado por Gomes Filho 2009, que trabalhando com Diversidade genética em acessos de goiabeiras (*Psidium guajava* L.) provenientes de Bom Jesus do Itabapoana – RJ, encontrou a formação de quatro grupos pela análise conjunta, sendo que o autor afirma que a metodologia mais confiável de avaliação da dissimilaridade genética dos acessos de goiabeira foi a análise conjunta.

O agrupamento pelo método UPGMA obteve um ajuste com as distâncias originais da ordem de 78%. Isto significa que para o agrupamento UPGMA obteve-se um coeficiente de correlação cofenético de 0,78, sendo este valor considerado aceitável, demonstrando que o método de agrupamento está de acordo com as distâncias originais, não havendo com isso grandes distorções nos resultados, revelando assim uma segurança no agrupamento formado (Sokal e Rohlf, 1962).

A partir do agrupamento pelo método de Tocher, foi verificado a formação de sete grupos, resultado diferente do apresentado pelo método UPGMA (Tabela 3).

Tabela 3. Agrupamento dos 30 genótipos de teca, pelo método de Tocher, com base na dissimilaridade expressa pelo algoritmo de Gower

Grupos	Genótipos
I	17, 21, 06, 09, 26, 20, 02, 11, 27, 29, 25, 01, 28, 19, 14, 13, 04, 08, 15, 05, 18, 23 e 24
II	07 e 30
III	10
IV	22
V	12
VI	16
VII	03

O primeiro grupo formado pelo método de Tocher, foi formado por 23 genótipos, semelhante ao método UPGMA, entretanto, os genótipos 18, 23 e 24, alocados no grupo I, no método UPGMA foram alocados no grupo II. O grupo II, foi formado por dois genótipos (07 e 30), esses genótipos pelo método UPGMA, foram alocados no grupo I.

Os grupos III, IV, V, VI e VII, foram formados por apenas um genótipo cada, resultado semelhante ao encontrado pela formação do método UPGMA, com exceção do genótipo 16, que se encontrava no grupo II pelo método UPGMA.

A distância proposta por Gower foi também utilizada por Rodríguez et al. (2005) para estudar em conjunto variáveis qualitativas e quantitativas, oriundas de 28 caracteres morfológicos e agrônômicos em *Brassica napus* L. Com o estudo, os autores determinaram a adequação do germoplasma estudado para o cultivo de verão e estimaram a divergência genética entre as populações locais. Com a análise conjunta dos dados, os autores conseguiram demonstrar a diversidade e o valor dos acessos estudados para o melhoramento da cultura.

Caracterização Molecular

Os marcadores moleculares ISSR, relevaram a existência de alta variabilidade genética entre os trinta genótipos de teca selecionados, sendo que para os 15 *primers* ISSR selecionados foi possível uma amplificação total de 111 fragmentos, sendo 99 bandas polimórficas (89.19%), com uma média de bandas amplificadas por *primers* de 7.4 (Tabela 4).

Esse resultado é inferior ao encontrado por Ansari et al. (2012), que ao estudarem 29 populações naturais de teca com base em marcadores ISSR, encontraram uma média de 8,6 bandas por *primer*, entretanto, foi superior ao encontrado por Giustina et al. (2013), que trabalhando com diversidade genética de genótipos de teca (*Tectona grandis* linn f.-*Lamiaceae*) utilizando marcadores ISSR, encontraram uma média de 4,66 bandas por *primer*.

Dentre os 15 *primers* utilizados, cinco deles mostraram 100% de polimorfismo, que foram UBC 811, UBC 817, UBC 826, UBC 835 e UBC 857. O *primer* com a menor porcentagem de polimorfismo foi o UBC 818 (66.66%).

O conteúdo de informação polimórfica (PIC), que segundo Varshney et al. (2007) levam em consideração o número total de fragmentos detectados para cada loco de um determinado iniciador e a frequência destes alelos no conjunto de genótipos investigados, nesse estudo variou de 0.70 (UBC 835) a 0.1468 (UBC 827), com média de 0.4294.

Tabela 4. Número total de bandas, percentual de polimorfismo e valor do PIC dos 30 genótipos de teca analisados

Primers	Nº de Bandas	% de Polimorfismo	PIC
UBC 807	8	87.5	0.3788
UBC 810	10	90	0.3345
UBC 811	6	100	0.4818
UBC 817	5	100	0.5308
UBC 818	3	66.66	0.2370
UBC 826	12	100	0.3679
UBC 827	8	75	0.1468
UBC 830	10	90	0.2861
UBC 835	4	100	0.7000
UBC 840	4	75	0.4497
UBC 841	8	87.5	0.5647
UBC 842	11	81.81	0.4189
UBC 855	7	85.71	0.4401
UBC 857	10	100	0.5576
UBC 861	5	80	0.5460
Média	7.4	89.19	0.4294

Segundo a classificação de Botstein et al. (1980), marcadores com valores de PIC superiores a 0,5 são considerados muito informativos, valores entre 0,25 e 0,50 mediamente informativos, e valores inferiores a 0,25, pouco informativos. Sendo assim, no presente estudo foram encontrados cinco *primers* considerados muito informativos, que foram os *primers* UBC 817, UBC 835, UBC 841, UBC 857 e UBC 861, sendo que marcadores ISSR que apresentam essa característica são os mais indicados para estudos de variabilidade (Ribeiro, 2011). Oito *primers* mediamente informativos: UBC 807, UBC 810, UBC 811, UBC 826, UBC 830, UBC 840, UBC 842 e UBC 855 e somente dois *primers* considerados pouco informativos: UBC 818 e UBC 827.

Com base na dissimilaridade gerada pelo complemento aritmético do Índice de Jaccard, foi possível confeccionar um dendrograma pelo método de agrupamento UPGMA, sendo que o mesmo formou 4 grupos (Figura 4).

O primeiro grupo formado foi composto por 27 genótipos, sendo o grupo com os genótipos menos dissimilares.

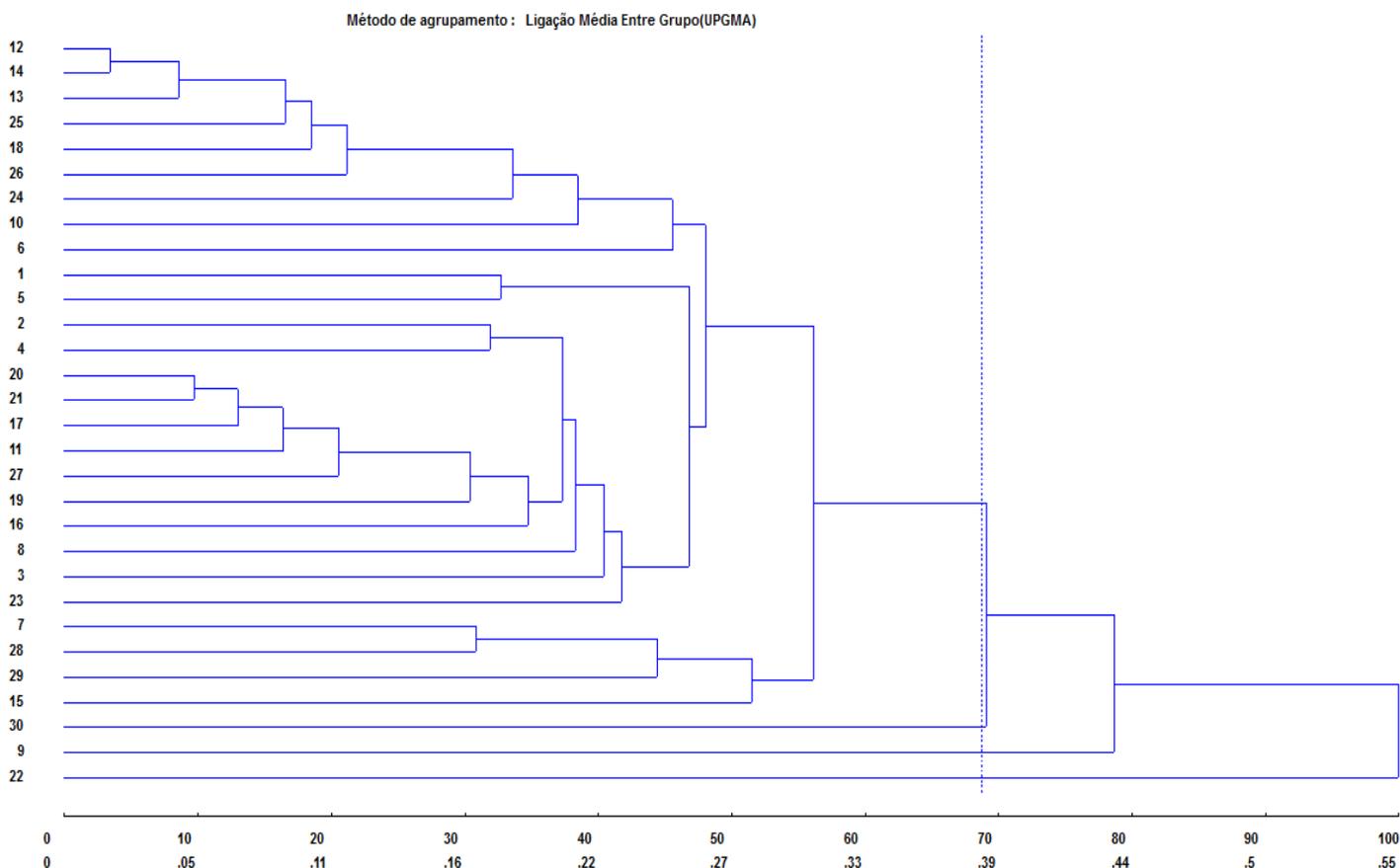


Figura 4. Dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA com base nos marcadores ISSR.

Os grupos II, III e IV, foram formados por apenas um genótipo cada, que foram os genótipos 30, 9 e 22 respectivamente, sendo assim, esses genótipos são considerados os mais divergentes pelo método de agrupamento UPGMA.

O coeficiente de correlação cofenética obtido entre a matriz de distância e o dendrograma ($r=0,93$) revelou um bom ajuste entre a representação gráfica das distâncias e a sua matriz original (Rohlf, 2000), demonstrando que o método de agrupamento está de acordo com as distâncias originais, não havendo com isso grandes distorções nos resultados, revelando assim uma segurança no agrupamento formado (Sokal e Rohlf, 1962).

Resultado diferente ao obtido pelo método de otimização de Tocher, que proporcionou a formação de apenas 2 grupos (Tabela 5).

Tabela 5. Agrupamento dos 30 genótipos de teca pelo método Tocher, a partir da análise molecular por meio dos marcadores ISSR

Grupos	Genótipos
I	12, 14, 13, 25, 18, 26, 24, 19, 10, 21, 11, 20, 17, 27, 03, 29, 05, 02, 16, 08, 01, 04, 23, 06, 28, 07, 15, 30 e 09
II	22

O grupo II, foi formado pelo genótipo 22, que pelo método de agrupamento UPGMA, também formou um grupo separado, mostrando assim ser o genótipo mais divergente entre os 30 genótipos de teca avaliados. O grupo I foi formado pelos demais genótipos.

A análise da diversidade genética para o conhecimento da variabilidade entre materiais de interesse torna-se muito vantajosa no processo de identificação de novas fontes de genes (Amaral Junior e Thiébaud, 1999). Para o melhoramento, que busca a variabilidade genética na progênie, com o objetivo da seleção de cultivares superiores, os acessos mais dissimilares são os mais apropriados (Cruz et al., 2004).

Análise Conjunta dos Dados

Pela análise da matriz de dissimilaridade obtida pelo algoritmo de Gower (1971), foi possível confeccionar um mapa de calor aonde mostra a distância entre os 30 genótipos de teca (Figura 5).

Pelo mapa de calor observa-se que quanto maior o grau de vermelho, maior a similaridade entre os genótipos, enquanto que as maiores dissimilaridades estão representadas pelas cores mais claras, portanto podemos observar que as maiores similaridades estão entre os genótipos 13, 14, 12, 25, 18 e 26, e as maiores dissimilaridades estão entre o genótipo 22 e os genótipos 3, 5, 27, 11, 21, 17, 23, 2, 19, 24, 18, 25, 12, 14 e 13.

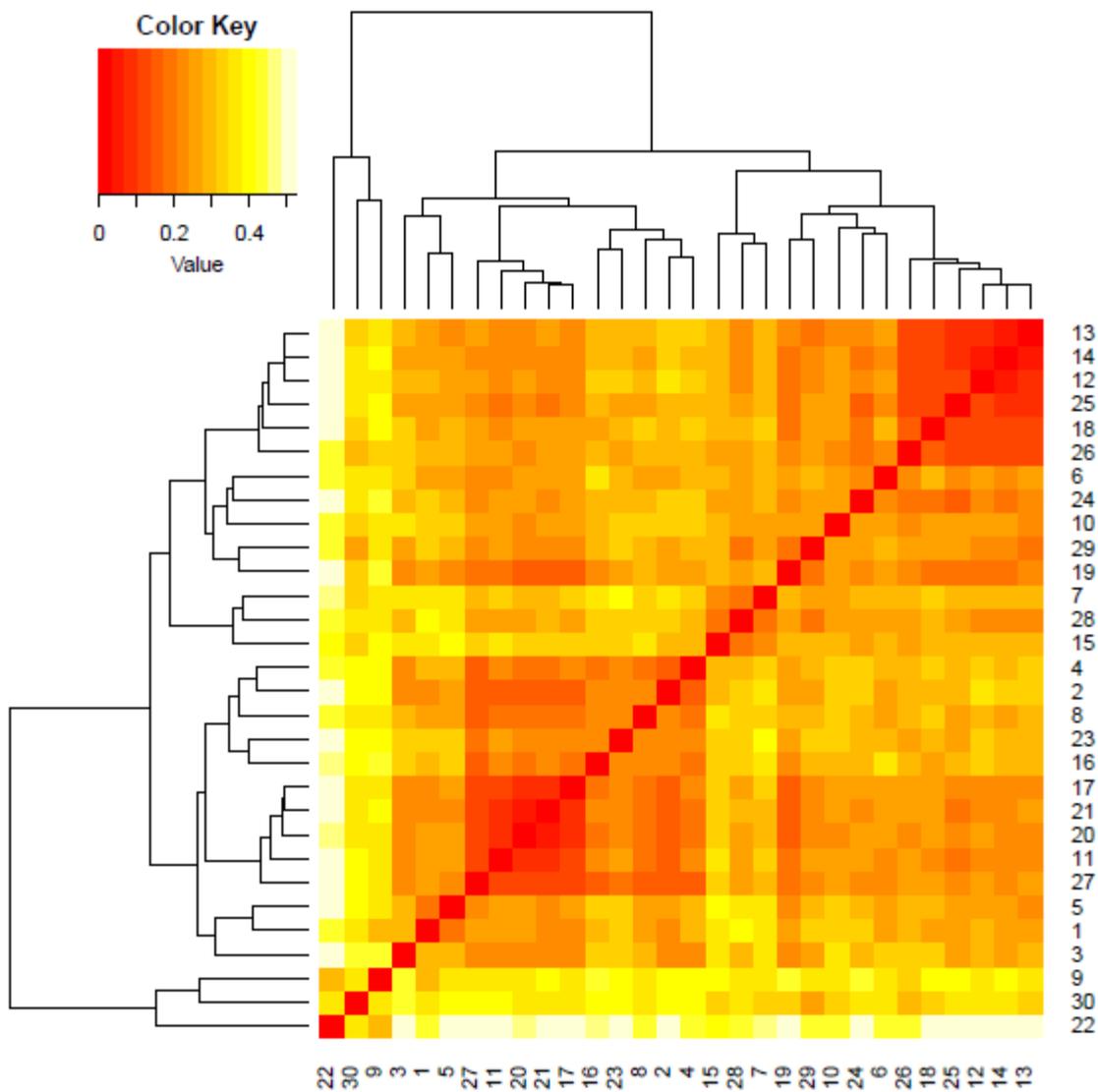


Figura 5. Distâncias entre os 30 genótipos de tecela pelo mapa

pa de calor a partir da matriz de dissimilaridade.

Pelo procedimento da função da verossimilhança, o número ideal de grupos foi igual a três, com um valor de incremento de 34,49 (Figura 6). A análise da função da verossimilhança permite definir critérios mais precisos na formação dos grupos, resultando no estabelecimento de grupos menos subjetivos (Gonçalves et al., 2009; Barbé et al., 2010; Cabral et al., 2010).

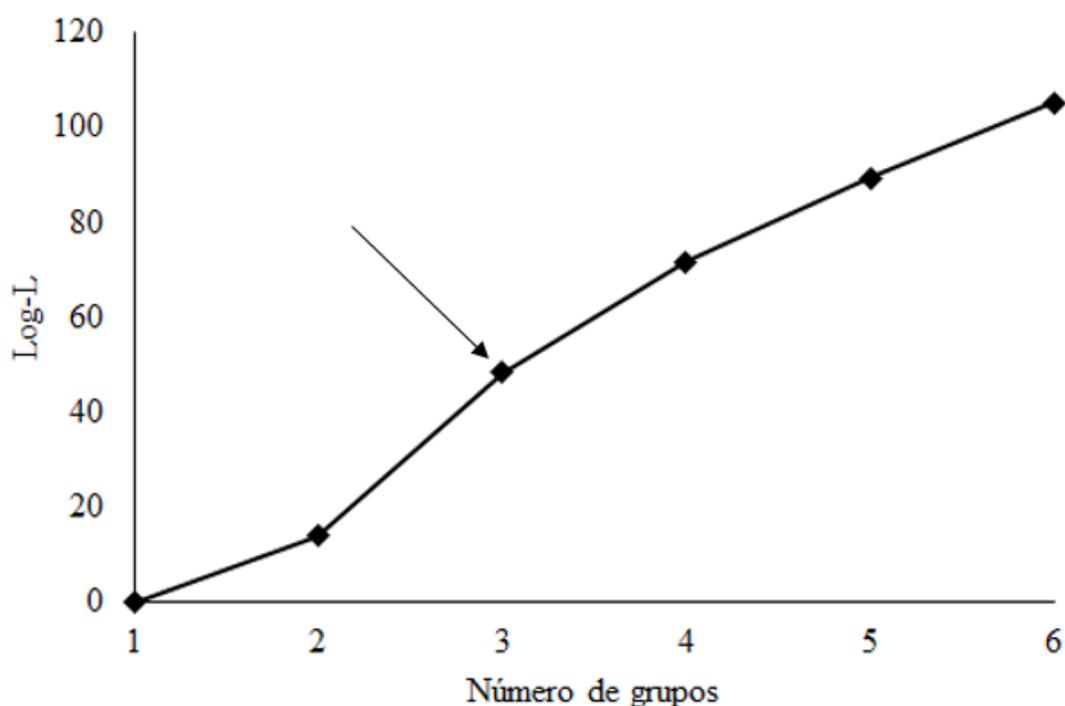


Figura 6. Gráfico da função logarítmica de verossimilhança (Log-L) em relação ao número de grupos.

Muitos estudos utilizam o procedimento da função da verossimilhança para determinar o número ideal de grupo, como o de Ortiz et al. (2008), que estudando raças de milho de altas altitudes do Peru, observaram que os maiores incrementos na função da probabilidade foram constatados na constituição de quatro e oito grupos e como o de Padilha et al. (2005), que avaliando a diversidade de 120 acessos de *Brassica rapa* subsp. *rapa* L., verificaram que o maior incremento na função da probabilidade foi atingido quando cinco grupos foram considerados.

Como base no algoritmo de Gower, foi verificado, por meio do método de agrupamento UPGMA, a formação de três grupos (Figura 7). O primeiro grupo foi formado por 14 genótipos, sendo eles 1, 2, 3, 4, 5, 8, 11, 16, 17, 19, 20, 21, 23 e 27, o grupo II foi formado por 13 genótipos (6, 7, 10, 12, 13, 14, 15, 18, 24, 25, 26, 28 e 29), e o grupo III foi formado por apenas três genótipos 9, 22 e 30.

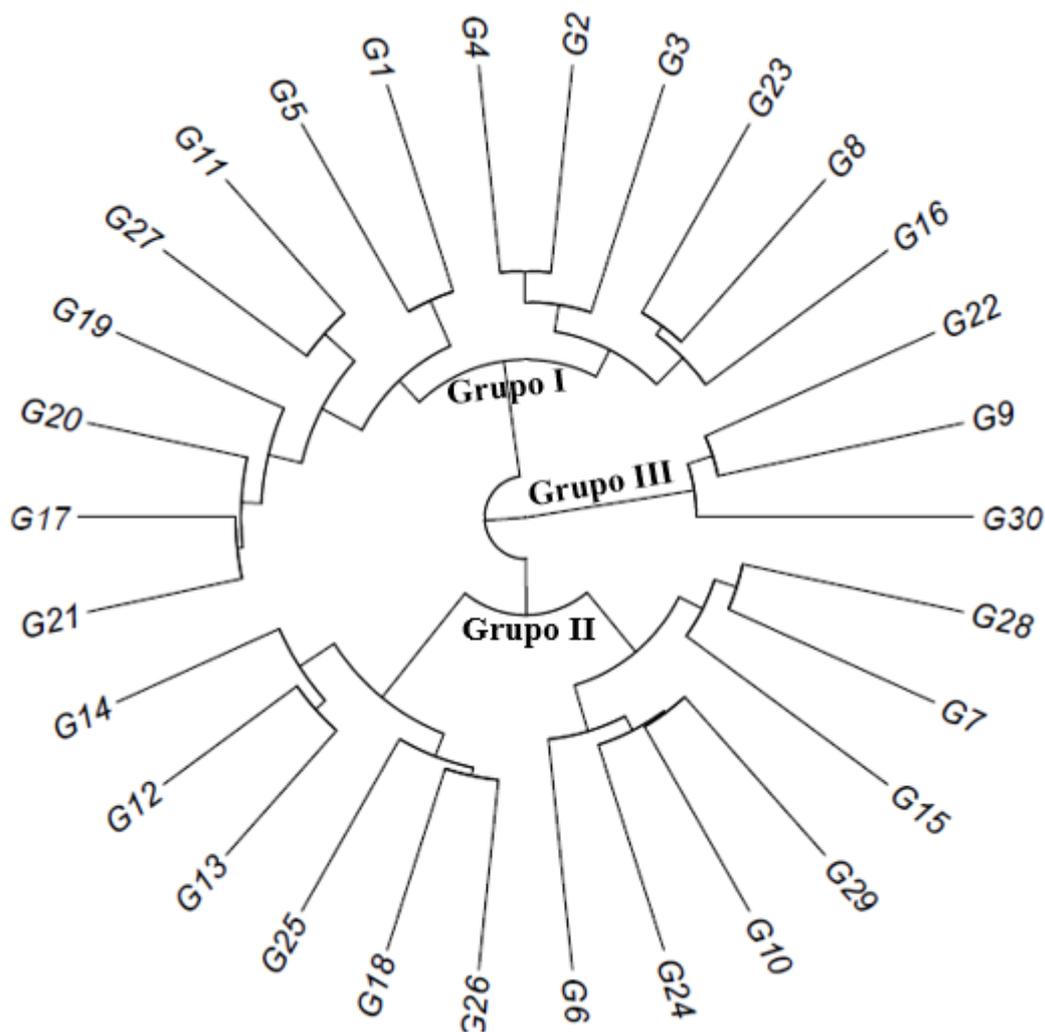


Figura 7. Agrupamento dos genótipos pelo método UPGMA baseado na distância de Gower obtida pelo procedimento Ward-MLM.

A principal característica qualitativa em comum, entre os genótipos do grupo I, é a ausência de pecíolo e em relação as características quantitativas os genótipos do grupo I, apresentou maiores valores nas características: Altura da planta, matéria verde e seca da parte aérea e raiz, comprimento e largura da folha mediana, largura da folha inferior e pilosidade glandular da parte adaxial.

Entre os genótipos do grupo II, as principais características qualitativas em comum foram a ausência de pecíolo e a forma do limbo na folha mediana do tipo elítica, para os dados quantitativos as características com destaque foram o diâmetro do caule, comprimento da folha superior, comprimento da folha inferior, pilosidade da forma hispida na parte adaxial e abaxial e pilosidade da forma sírcio na parte abaxial.

O grupo III, formado pelo menor número de genótipos, possuem em comum forma do limbo do tipo elitica e forma do ápice do tipo cuspidado, segundo classificação de Vidal e Vidal (2003), e para as características quantitativas, somente a característica pilosidade da forma glandular na parte abaxial foi superior em relação aos outros grupos.

O coeficiente de correlação cofenética foi de 0,86 revelando um bom ajuste entre a representação gráfica das distâncias e a sua matriz original (Rohlf, 2000).

Com base na análise de variáveis canônicas, foi verificado que as duas primeiras variáveis foram responsáveis por 90.65%. Logo, um gráfico bidimensional é suficiente para capitalizar uma boa proporção da variabilidade genética (Figura 8).

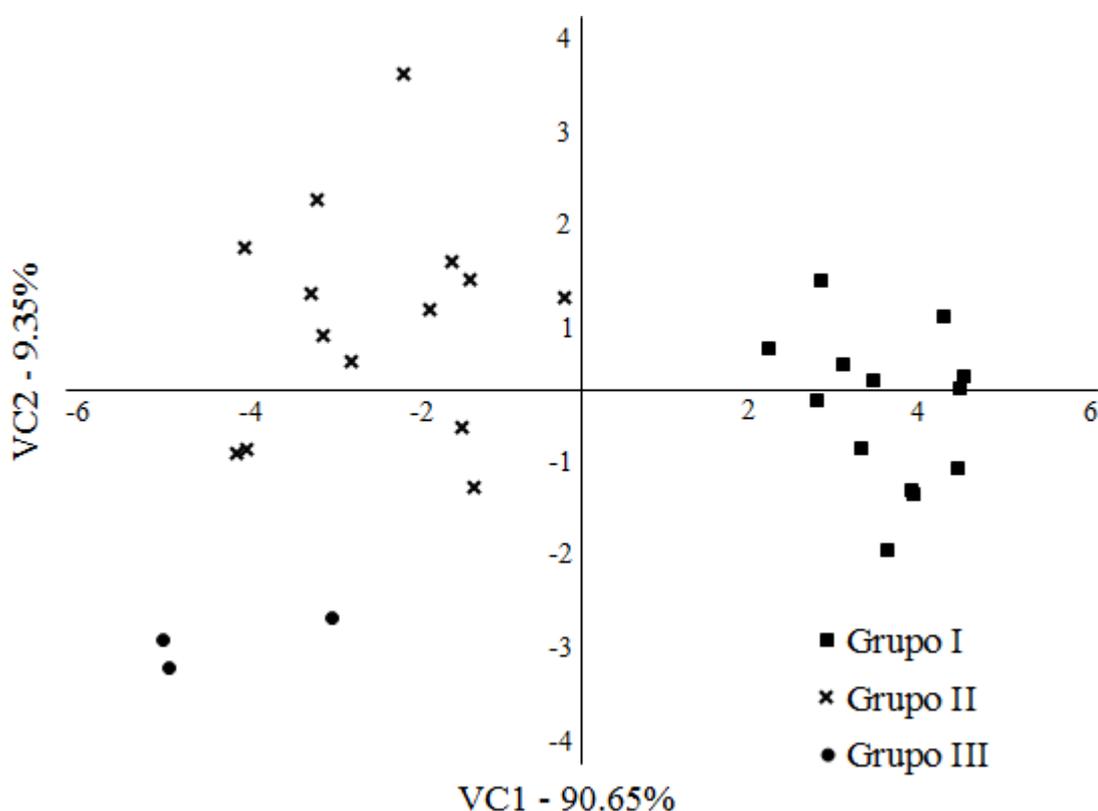


Figura 8. Agrupamento dos genótipos pelas três primeiras variáveis canônicas pela análise Ward-MLM.

Resultado semelhante ao encontrado por Gonçalves et al. (2009), que trabalhando com tomate, verificaram que as duas primeiras variáveis canônicas explicaram cerca de 90% da variabilidade entre os grupos, e o gráfico bidimensional mostrou-se adequado para a visualização da relação entre os grupos.

Pela análise gráfica de variáveis canônicas, percebe-se um distanciamento do grupo I dos demais grupos formados pelo procedimento Ward-MLM e a aproximação dos grupos I e II. Esses resultados estão em consonância aos obtidos pela distância proposta por Franco et al. (1998), (Tabela 6). No qual se verifica que os grupos I e III são os mais distantes (66,02), enquanto os grupos I e II são os mais próximos (15,24).

Tabela 6. Distância entre os grupos formados pelo procedimento Ward-MLM, proposto por Franco et al. (1998)

Grupo	1	2	3
1	0.00	35.92	66.02
2		0.00	15.24
3			0.00

CONCLUSÃO

Há variabilidade genética entre os 30 genótipos de teca estudados, considerando-se as variáveis quantitativas, qualitativas e moleculares pelo procedimento estatístico Ward-MLM.

Os caracteres morfológicos utilizados mostraram ser eficientes para o estudo de variabilidade genética, entretanto não foi possível compor uma tabela de descritores para genótipos clonais de teca baseado nas características avaliadas.

O método de Gower foi eficiente na discriminação dos grupos, demonstrando que a análise simultânea de dados qualitativos e quantitativos é viável e pode permitir maior eficiência no conhecimento da variabilidade entre genótipos de teca.

O genótipo 22 mostrou ser o mais divergente em relação aos outros genótipos, pois com exceção do agrupamento dos genótipos pelo método UPGMA baseado na distância de Gower obtida pelo procedimento Ward-MLM que formou um grupo com os genótipos 9 e 30, nas análises morfológica e molecular encontrou-se em grupos sozinhos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCANTARA, B.K.; SOUZA, V.C. Identificação dos descritores morfológicos para teca (*Tectona grandis*). In: **Simpósio internacional de iniciação científica da USP**. 2007, Pirassununga. São Paulo: USP, 2007.
- ALCANTARA, B. K; SIQUEIRA, M. V. B. M; VEASEY, E. A. Comparação de métodos de extração de DNA de teca (*Tectona grandis* L. f.) para estudos de caracterização genética usando SSR. In: **54º Congresso Brasileiro de Genética**, p.35, 2008.
- AMARAL JUNIOR, A. T.; THIÉBAUT, J. T. L. **Análise multivariada na avaliação da diversidade em recursos genéticos vegetais**. Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF/CCTA, Campos dos Goytacazes – RJ, 55p., 1999.
- ANDRADE, R.A.; LEMOS, E.G.M.; MARTINS, A.B.G.; PAULA, R.C. Caracterização morfológica de rambutan. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 31, n. 4, p. 613-619, 2009.
- ANSARI, S. A.; NARAYANAN, C.; WALI, S. A.; KUMAR, R.; SHUKLA, N.; RAHANGDALE, S. K. ISSR markers for analysis of molecular diversity and genetic structure of Indian teak (*Tectona grandis* L.f.) populations. **Annals Forest Research**. 55(1): 11-23, 2012.
- BARBÉ, T. da C.; AMARAL JÚNIOR, A.T. do; GONÇALVES, L.S.A.; RODRIGUES, R.; SCAPIM, C.A. Association between advanced generations and genealogy in inbred lines of snap bean by the Ward-Modified Location Model. **Euphytica**, Wageningen, v.173, n.3, p.337-343, 2010.
- BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKOLMICK, H. et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisn. **American Journal of Human Genetics**, v.32, p.314-331, 1980.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Proteção de Cultivares no Brasil**. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. Brasília: Mapa/ACS, 202 p, 2011.
- CABRAL, P. D. S.; SOARES, T. C. B.; GONÇALVES, L. S. A.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; LIMA, A. B. P.; RODRIGUES, R.; MATTA, F. P. Quantification of the diversity among common bean accessions using Ward-MLM strategy. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, n.10, p.1124-1132, 2010.

CACERES FLORESTAL S/A. **Manual do reflorestamento da teca**. Cáceres: 1997. 30p.

CLARCK, R. B. Characterization of phosphates in intact maize roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 23, n. 3, p. 458-460, 1975.

CROSSA, J.; FRANCO, J. Statistical methods for classifying genotypes. **Euphytica**, v. 137, n. 1, p. 19-37, 2004.

CRUZ, C.D. et al. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético II**. Viçosa: UFV, 2004. 480p.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético**. 2ª ed. Viçosa: UFV, 585p, 2006.

CRUZ, C. D. GENES: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**. 35: 271-276, 2013.

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

FERMINO JUNIOR, P. C. P.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. Características anatômicas de folhas de Teca (*Tectona grandis* L.) desenvolvidas sob condições de cultivo in vitro e ex vitro. **Evidencia**, v. 9 n. 1-2, p. 17-28, 2009.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Future of teak and the high-grade tropical hardwood sector: planted forests and trees** working paper FP/44E. Rome, 2009a. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 23 de agosto de 2010.

FRANCO, J.; CROSSA, J.; VILLASEÑOR, J.; TABA, S.; EBERHART, S.A. Classifying genetic resources by categorical and continuous variables. **Crop Science**, Madison, v.38, n.6, p.1688-1696, 1998.

GIUSTINA, L.D.; ROSSI, A. A. B.; PASSOS, A. F.; BARELLI, M. A. A.; KRAUSE, W.; PEREIRA, T. N. S. Diversidade genética de genótipos de teca (*Tectona grandis* LINN F.-Lamiaceae) utilizando marcadores ISSR. In: 7º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 2013, Uberlândia. **Anais**, p. 212-216, 2013.

GOMES FILHO, A. **Diversidade genética em acessos de goiabeiras (*Psidium guajava* L.) provenientes de Bom Jesus do Itabapoana – RJ**, 2009. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas), Campos dos Goytacazes – RJ, 2009.

GOMES FILHO, A.; OLIVEIRA, J.G; VIANA, A.P.; SIQUEIRA, A.P.O.; OLIVEIRA, M.G.; PEREIRA, M.G. Marcadores moleculares RAPD e descritores morfológicos na avaliação da diversidade genética de goiabeiras (*Psidiumguajava*L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 32, n. 4, p. 627-633, 2010.

GONÇALVES, L. S. A.; RODRIGUES, R.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; KARASAWA, M.; SUDRÉ, C. P. Comparison of multivariate statistical algorithms to cluster tomato heirloom accessions. **Genetics and Molecular Research**, v. 7, n. 4, p. 1289-1297b, 2008.

GONÇALVES, L.S.A.; RODRIGUES, R.; AMARAL JÚNIOR, A.T.; KARASAWA, M.; SUDRÉ, C.P. Heirloom tomato gene bank: assessing genetic divergence based on morphological, agronomic and molecular data using Ward-modified location model. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v.8, n.1, p.364-374, 2009.

GOWER, J. C. A general coefficient of similarity and some of its properties. **Biometrics**, v. 27, n. 4, p. 857-874, 1971.

GUGANA, R.P.; SURENDRAN, T. Leaf morphological variations in teak (*Tectona grandis*L.f.) clones. **Evergreen**, 2002.

International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV). **Glossary of terms used in UPOV documents**. 2010. Disponível em: http://www.upov.int/export/sites/upov/en/publications/tgp/documents/tgp_1_4_1.pdf. Acesso em: 23/04/2011.

LYNGDOH, N. GUGANA, R.P; VADUSEVA, R. Delineation of teak (*Tectona grandis*L.f.) clones through leaf descriptors. **Indian Journal of Forestry**, v.30, n.1, p.21-28, 2007.

MADAIL, R.H.; PIO, L.A.S.; PASQUAL, M.; SILVA, S.O. Caracterização morfológica de cultivares de bananeira micro propagada sem estágio juvenil. **Ciência rural**, v.41, n.2, 2011.

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

MIRANDA, M. C. **Caracterização morfológica e avaliação do desenvolvimento inicial de clones de teca** (*Tectona grandis* L.f.). 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais e Ambientais) – Faculdade de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Mato Grosso. Cuiabá – MT, 2013.

- NARAYANAN, C.; DUBEY, S.; WALI, S. A.; SHUKLA, N.; KUMAR, R.; MANDAL, A. K.; ANSARI, S. A. Optimization of DNA extraction for ISSR studies in *Tectona grandis* L. f. – an important forest tree species. **African Journal of Biotechnology** Vol. 5 (13), pp. 1220-1223, 2006.
- NASCIMENTO, V.E. **Caracterização de plantas de mamey**. 2008. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal. Disponível em: <http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/pv/m/3463.pdf>. Acesso em: 11/04/2011.
- ORTIZ, R.; CROSSA, J.; FRANCO, J.; SEVILLA, R.; BURGUEÑO, J. Classification of Peruvian highland maize races using plant traits. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v.55, n.1, p.151-162, 2008.
- PADILLA, G.; CARTEA, M.E.; RODRÍGUEZ, V.M.; ORDÁS, A. Genetic diversity in a germplasm collection of *Brassica rapa* subsp. *rapa* L. from northwestern Spain. **Euphytica**, Wageningen, v.145, n.2, p.171-180, 2005.
- PINTO, J.F.N.; REIS, E.F.; FALEIRO, F.G.; BARBOSA, E.C.C.; NUNES, H.F. Seleção de descritores vegetativos para caracterização de acessos de guariroba (*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, n.3, p.832-840, 2010.
- RAWAT, M.S.; UNIYAL, D.P.; SHARMA, S.L. Identification of provenances based on leaf morphology in *Tectona grandis*. **Indian Forester**, 1998.
- REZENDE, R.K. PAIVA, L. V.; PAIVA, R.; CHALFUN-JÚNIOR, A.; TORGA, P. P. Divergência genética entre cultivares de gérbera utilizando marcadores RAPD. **Ciência Rural**, v.39, n.8, nov. 2009.
- RIBEIRO, I. C. N. S. **Análise da divergência genética em acessos de *Mangifera indica* com base em descritores agro-morfológicos e marcadores microssatélites**. Feira de Santana, Universidade Estadual de Feira de Santana 2011. 113p. (Dissertação – Mestrado em Recursos Genéticos Florestais).
- RODRÍGUEZ, V. M.; CARTEA, M. E.; PADILLA, G.; VELASCO, P.; ORDÁS, A. The nabicol: A horticultural crop in northwestern Spain. **Euphytica**, v. 142, n. 3, p. 237-246, 2005.
- ROHLF, F. J. **NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.1**. New York: Exeter Software, 2000. 83p.
- SAS INSTITUTE. **Statistical analysis system: user's guide**. Cary: SAS, 2009.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxonomy**. 11: 30-40, 1962.

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

VARSHNEY, R.K.; THIEL, T.; SRETENOVIC-RAJICIC, T.; BAUM, M.; VALKOUN, J.; GUO, P.; GRANDO, S.; CECCARELLI, S.; GRANER, A. Identification and validation of a core set of informative genic SSR and SNP markers for assaying functional diversity in barley, **Molecular Breeding**. Vol. 22, pag.1–13. 2007.

VIDAL, W. N.; VIDAL, M. R. R. **Botânica – Organografia, quadros sinóticos ilustrados de fanerógamos**, ed. 4, Viçosa: UFV, 124p, 2003.

VIEIRA, E. A.; CARVALHO, F. I. F.; BERTAN, I.; KOPP, M. M.; ZIMMER, P. D.; BENIN, G.; SILVA, J. A. G.; HARTWING, I.; MALONE, G.; OLIVEIRA, A. C. Association between genetic distances in wheat (*Triticum aestivum* L.) as estimated by AFLP and morphological markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, n. 2, p. 392-399, 2007.

WARD, J.H. Hierarchical grouping to optimize an objective function. **Journal of the American Statistical Association**, New York, v.58, n.301, p.236-244, 1963.

ZIETKIEWICZ, E; RAJALSKI, A; LABUDA, D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) – anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomics**, 20:176–183, 1994.

4.2 CAPÍTULO 2 –

COMPONENTES DE RESISTÊNCIA EM GENÓTIPOS DE TECA A *Olivea neotectonae* COMO CRITÉRIO DE SELEÇÃO DE GENÓTIPOS PROMISSORES

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi identificar melhores componentes de resistência ao fungo *Olivea neotectonae* que permitam predições adequadas de genótipos promissores de teca a serem explorados nos programas de melhoramento ou para o manejo de doença. Foram avaliados 30 diferentes genótipos de teca clonais em casa de vegetação proveniente da empresa PROTECA Biotecnologia Florestal, O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com três repetições e três plantas por parcela. As características avaliadas foram: Período latente médio, Número de pústulas por cm², Área Abaixo da Curva de Progresso do Número de Pústulas (AACPNP), Frequência de infecção e Número de urediniosporos por pústula. Os dados das características de resistência foram submetidos à análise de variância e testado a significância pelo teste F, foi realizada uma análise multivariada das características de resistência, aplicando-se as técnicas de agrupamento e de variáveis canônicas. Pode-se concluir que existe variabilidade genética entre os 30 genótipos de *Tectona grandis*, proveniente da empresa PROTECA em relação a resistência ao fungo *Olivea neotectonae*, tanto para o método de Ligação Media entre Grupos (UPGMA) e o método de Variáveis canônicas os genótipos que apresentaram maiores resistência para o fungo *Olivea neotectonea*, foram os genótipos 03 e 10, para susceptibilidade houve discordância entre os métodos UPGMA e variáveis canônicas.

PALAVRAS-CHAVE: *Tectona grandis* Linn F., ferrugem da teca, mudas clonais.

COMPONENTS OF RESISTANCE IN TEAK TO *Olivea neotectonae* AS A CRITERION FOR SELECTING PROMISING GENOTYPES

ABSTRACT

The aim of this paper was to identify the best components involving resistance to the *O. neotectonae* fungus, allowing for adequate selection of promising teak genotypes to explore in improvement programs or for disease management. Thirty different clonal teak genotypes from the PROTECA Forest Biotechnology company were evaluated in the greenhouse. The experimental framework was one of randomized blocks, with three repetitions and three plants per segment. The characteristics evaluated were: Average latent period, Number of pustules per cm², Area below the number of pustules progress curve (ABNPPC), Frequency of infection, and Number of urediniospores per pustule. The data for the resistance characteristics were submitted to ANOVA and multivariate analysis applying grouping techniques and canonical variables. High genetic variability among the 30 *T. grandis* genotypes regarding resistance to the *O. neotectonae* fungus. Both for the Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) and the canonical variables method the genotypes that showed the greatest resistance to the *O. neotectonea* fungus were genotypes 03 and 10. For susceptibility there was disagreement between the UPGMA and canonical variables methods.

KEYWORDS: *Tectona grandis* Linn F., teak rusk, clonal seedlings.

INTRODUÇÃO

A teca (*Tectona grandis* Linn F.), é uma espécie arbórea pertencente à família Lamiaceae (Souza e Lorenzi, 2008), a palavra *Tectona* vem do grego “*tekton*” e significa carpinteiro e *grandis* provem do Latim e tem o significado de nobre, sendo que essa espécie era muito utilizada pelos carpinteiros, assim o significado do nome *Tectona grandis* (Tewari, 1999).

A teca produz uma madeira excepcional, muito valorizada e procurada no comércio mundial por combinar beleza, estabilidade, durabilidade e resistência (Matricardi, 1989), sua alcança bons preços e, compete, no momento em igualdade de situação com madeiras consideradas nobres no mercado mundial.

As perspectivas para o cultivo da teca na região Centro-Oeste, especialmente no Estado de Mato Grosso, sugerem retorno econômico desejável e previsível, tendo em vista as condições edafo-climáticas da região e alguns indicadores em termos de produção para o Estado (Golfari et al., 1978)

Entre os fatores que reduzem a produtividade da cultura, destaca-se a ferrugem da teca, causada pelo fungo *Olivea neotectonae* (Pieri et al., 2011), pertencente ao Filo Basidiomycota, Ordem Pucciniales, Family Chaconiaceae (Céspedes et al., 2014). O primeiro relato dessa doença no continente americano foi no Panamá em 2003 (Esquivel, 2003) e no próximo ano na Costa Rica (Arguedas, 2004), Equador (Pinargote, 2004) e no México pela Organização Norte-Americana para Proteção de Plantas (NAPPO, 2005). Sendo que no Brasil o primeiro relato oficial da doença foi em 2009 no município de Sinop, MT (Bonaldo et al., 2011).

Entre as doenças foliares da teca, a ferrugem é a de maior importância (Arguedas, 2006), sendo que ataques severos induzem a seca rápida das folhas e o desfolhamento das plantas, que ficam debilitadas e retardam significativamente o tempo para a produção de madeira, tornando-a com baixa qualidade (Céspedes; Yepes, 2007). Estudos em Cuba indicam que árvores jovens sofrem desfolhamento cerca de 20 a 30 dias após o início do aparecimento dos sintomas, além de apresentar crescimento reduzido (Pérez et al., 2008).

De forma geral, os programas de melhoramento genético da teca, concentram-se no desenvolvimento de clones, com ênfase na taxa de crescimento e propriedades da madeira, no entanto não existem programas de melhoramento

genético visando a resistência a doenças. Sendo assim nota-se a necessidade de programas de melhoramento visando a resistência de doenças em culturas florestais. Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi identificar melhores componentes de resistência ao fungo *O. neotectonae* que permitam predições adequadas de genótipos promissores de teca a serem explorados nos programas de melhoramento ou para o manejo de doença.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Campus Universitário de Cáceres da Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, 16 ° 11' 42" de latitude Sul e 57° 40' 51" de longitude Oeste, a 210 km de Cuiabá.

Foram avaliados 30 diferentes genótipos de teca clonais selecionados em casa de vegetação proveniente da empresa PROTECA Biotecnologia Florestal (Tabela 1). O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com três repetições e cada parcela foi composta por três plantas. As mudas foram plantadas inicialmente com 10 cm de alturas em vasos de 2 litros contendo uma mistura de solo e areia na proporção de 3:1. A adubação foi realizada uma vez por semana utilizando 100 mL de solução nutritiva (Clarck, 1975). A irrigação foi realizada manualmente sem o molhamento das folhas e foi realizada nebulizações de 3 segundos a cada 10 min para manter a umidade do ar alta.

Tabela 1. Identificação dos 30 genótipos de Teca selecionados provenientes da PROTECA Biotecnologia Florestal

Tratamento	Identificação dos Clones	Origem/procedência	Tratamento	Identificação dos Clones	Origem/procedência	
1	A2	Ilhas Salomão	16	B17	Brasil	
2	A3		17	C1	Malásia	
3	A4		18	C2		
4	A6		19	C5		
5	A7		20	D2	Índia	
6	A8		21	D3		
7	A9		22	D4		
8	A10		23	E2	Indonésia	
9	A11		24	E4		
10	A12		25	G1	Costa do Marfim	
11	B2		26	G2		
12	B6		Brasil	27	J1	Gana
13	B8			28	J2	
14	B14			29	T4	Tanzânia
15	B16		30	T8		

A PROTECA Biotecnologia Florestal é uma empresa especializada na propagação clonal da teca a mais de 10 anos e detém uma coleção exclusiva de genótipos superiores desta espécie florestal.

Inoculação

O inóculo utilizado foi proveniente de folhas de teca coletadas na região de Cáceres-MT com sintomas de ferrugem. Os urediniósporos foram coletados através da raspagem das folhas com um pincel, posteriormente, foi preparada uma suspensão de esporos com água destilada e tween 80 (0,075%). A concentração da suspensão foi ajustada a 2×10^4 esporos por mL de água com o auxílio de uma câmara de Neubauer (Sood; Comstock; Glynn, 2009).

A inoculação dos genótipos foi realizada aos 36 dias após o transplante das mudas, utilizando-se aproximadamente 11 mL da suspensão por planta. A inoculação foi realizada pulverizando-se todas as folhas com auxílio de um borrifador manual. Após a inoculação os genótipos foram cobertos com saco pretos por 24 horas (câmara úmida). As plantas foram mantidas em casa de vegetação durante todo o período do experimento. As temperaturas máxima e mínima registadas no dia da inoculação foram de 16,4 e 27,6°C, respectivamente, e a média durante todo o experimento foi de mínima 22,08 e máxima 34,02°C.

Após a inoculação foram selecionadas duas folhas do terço médio de cada planta para as avaliações. Essas folhas foram marcadas com barbantes de cores diferentes, identificando a folha um (F1) e folha dois (F2), sendo que a F1 foi avaliada até 20 dias após a inoculação (20DAI) e a F2 até 32 dias após a inoculação (32DAI), proporcionando, assim, dois períodos de avaliações. Todas as variáveis, exceto o período latente, foram avaliadas para esses dois períodos de avaliações.

Avaliações

- Período latente médio: intervalo, em dias, entre a inoculação até o aparecimento de pústulas esporulando em 50 % das folhas marcadas por repetição por genótipo (Griffiths & Jones, 1987).
- Número de pústulas por cm²: diariamente foi contado o total de pústula presentes em cada folha marcada. Essa contagem foi realizada até os 20DAI e 32DAI para as folhas F1 e F2, respectivamente. Para determinar a área de cada folha, ao final de cada período de avaliação (20DAI e 32DAI), as folhas marcadas foram coletadas e digitalizadas. Em seguida, foi realizada a mensuração da área total de cada folha com o auxílio do programa computacional ImageJ. O número de

pústulas por cm² para cada dia de avaliação foi calculado dividindo-se o número de pústulas pela área foliar total de cada folha marcada.

- Área Abaixo da Curva de Progresso do Número de Pústulas (AACPNP): Com os valores diários do número de pústulas por cm² foi calculado a AACPNP baseando-se na equação proposta por Shaner e Finney (1977).

$$\text{AACPNP} = \sum_{i=1}^{n-1} \left[\frac{(Y_i + Y_{i+1})}{2} \right] (t_{i+1} - t_i)$$

Onde, n é o número de avaliações, $t_{i+1} - t_i$ é o intervalo entre duas avaliações e Y_i e Y_{i+1} são duas avaliações consecutivas realizadas nos tempos t_{i+1} e t_i .

- Frequência de infecção: A frequência de infecção foi estimada dividindo-se o número médio de urediniósporos depositados por cm² pelo número de pústulas formadas por cm² de área foliar. Para determinar o número médio de urediniósporos depositados nas folhas, no momento da inoculação, lâminas de microscópio foram borrifadas com a suspensão de esporos da mesma forma descrita para a inoculação das plantas. Em seguida, foi contado o total de esporos depositados/cm² em cada lâmina, com auxílio de um microscópio ótico. Para o cálculo da frequência de infecção foi considerado o número de pústulas formadas por cm² de área foliar do último dia de avaliação para cada folha marcada.
- Número de urediniósporos por pústula: A contagem do número de esporos produzidos por pústula foi realizado aos 20DAI para a F1 e aos 32DAI para a F2. Para essas contagens foram retirados três seguimentos de 1 cm² das áreas mais afetadas de cada folha marcada. Em seguida, os seguimentos foram acondicionados em microtúbulos de 1,5 mL, nos quais se adicionou 1 mL de solução de água destilada + 0,075% Tween 80. Posteriormente, os microtúbulos foram agitados em um agitador orbital vortex por 30 min, para que os urediniósporos fossem liberados na solução. Em seguida, os seguimentos foram retirados e colocados em placas de petri para a contagem do número de pústulas. Essa contagem foi realizada utilizando-se um microscópio

estereoscópio. A quantificação do número de urediniosporos foi realizada com o auxílio da câmera de Neubauer. Esses dados foram utilizados para a quantificação do número de urediniósporos produzidos por pústulas.

Análise dos dados

Os dados das características de resistência foram submetidos à análise de variância e testado a significância pelo teste F, utilizando-se o programa Genes (Cruz, 2013).

Foi realizada uma análise multivariada das características de resistência, aplicando-se as técnicas de agrupamento e de variáveis canônicas. Na técnica de agrupamento, foi utilizada a distância generalizada de *Mahalanobis* (Mahalanobis, 1936) como medida de dissimilaridade, e na delimitação dos grupos, a construção de um dendrograma utilizando o método de agrupamento da ligação média entre grupos (UPGMA) sendo que o ajuste entre a matriz de distâncias e o dendrograma foi estimado pelo Coeficiente de Correlação Cofenética (CCC) (Sokal e Rohlf, 1962).

Na análise de variáveis canônicas, a variabilidade genética foi evidenciada por meio da projeção 3D com as três primeiras variáveis. Também foi adicionado a contribuição relativa dos caracteres por meio das distâncias generalizadas de Mahalanobis, utilizando o critério proposto por Singh (1981) e a análise da correlação linear de Pearson. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa computacional Genes (Cruz, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os componentes de resistência analisados, apresentaram grande variação quantitativa entre os genótipos, além disso os coeficientes de correlação linear de Pearson observados entre os componentes foram significativos, para as variáveis Frequência de Infecção x AACPNP, Frequência de Infecção x Pústula por cm² e AACPNP x Pústula por cm², sendo que todas as correlações significativas mostraram ser positivas, o que demonstra a associação entre as variáveis (Tabela 2).

Tabela 2. Coeficientes de correlação de Pearson entre os componentes de resistência.

Variáveis	Esporos por Pústula	Período Latente	Frequência de Infecção	AACPNP
Período Latente	0.0191 ns	-	-	-
Frequência de Infecção	0.1017 ns	0.0535 ns	-	-
AACPNP	0.0706 ns	0.0092 ns	0.9845**	-
Pústula por cm ²	.0527 ns	0.1046 ns	0.9417**	0.955**

^{ns}Não-significativo; ^{**}Significativo a 1% de probabilidade.

Com base na magnitude relativa de valores da distância de *Mahalanobis* obtida através das características de resistência ao fungo *Olivea neotectonae* analisadas, foi verificado, por meio do método de agrupamento UPGMA, a existência de variabilidade genética entre os genótipos, obtendo a formação de quatro grupos distintos (Tabela 3). Resultado semelhante ao encontrado por Xavier 2007, que trabalhando com a resistência de outras espécies florestais, como o *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus nitens* à ferrugem (*Puccinia psidii*) constatou-se variabilidade nas espécies avaliadas.

O primeiro grupo foi formado por dois genótipos (03 e 10) sendo esses os genótipos que apresentaram maior resistência ao fungo *Olivea neotectonae*, para as características avaliadas.

Tabela 03: Variáveis epidemiológicas apresentadas pelos genótipos de teca infectados por *O. neotectonae*⁽¹⁾

Genótipos	Período	Frequência	AACPNP	Pústulas por cm ²	Esporos	Grupos ⁽²⁾
	Latente (dias)	de Infecção			por Pústula	
3	0	0.0001	0.0012	0.0009	0	I
10	0	0	0	0	0	I
13	16	0.1382	0.9538	1.3306	1154.1214	II
18	16	0.0850	0.6310	0.8187	1206.0846	II
1	19	0.0097	0.0687	0.0929	447.8114	III
2	17	0.0078	0.0544	0.0753	1129.6296	III
4	15	0.0282	0.2224	0.2717	877.0341	III
5	15	0.0149	0.1014	0.1432	489.4026	III
6	13	0.0026	0.0207	0.0247	550.5051	III
9	14	0.0088	0.0490	0.0844	440.4762	III
11	16	0.0132	0.0992	0.1274	1153.1085	III
14	16	0.0350	0.2399	0.3369	867.8838	III
15	16	0.0187	0.1267	0.1804	1602.2377	III
16	15	0.0256	0.1635	0.2462	1310.8466	III
17	17	0.0290	0.2193	0.2795	1777.9982	III
19	11	0.0127	0.0923	0.1220	814.8148	III
20	10	0.0545	0.3973	0.5250	467.5926	III
21	19	0.0113	0.0716	0.1084	612.7900	III

Continua...

Continuação Tabela 03...

22	15	0.0164	0.1374	0.1578	1012.0321	III
23	17	0.0159	0.1313	0.1530	1167.2263	III
24	18	0.0214	0.1376	0.2060	885.5219	III
25	18	0.0410	0.2779	0.3944	787.1840	III
26	13	0.0273	0.1467	0.2631	642.8571	III
27	17	0.0186	0.1401	0.1786	734.0700	III
28	10	0.0238	0.1963	0.2294	669.4866	III
29	16	0.0224	0.1760	0.2152	1296.3028	III
30	16	0.0158	0.1059	0.1525	1453.3815	III
7	15	0.0599	0.3889	0.5763	2040.4889	IV
8	14	0.0837	0.5283	0.8055	968.7447	IV
12	14	0.0780	0.4568	0.7510	931.9924	IV

⁽¹⁾ Médias dos tratamentos; ⁽²⁾ Agrupamento dos genótipos pelo uso da distância generalizada D2 de Mahalanobis e pelo método UPGMA.

Os genótipos representantes do grupo I, merecem destaque por apresentarem características de resistência superiores aos demais genótipos, nesse grupo com apenas os vinte dias de avaliações não foi possível determinar o período latente, sendo assim o fungo precisa de maior período de tempo para se estabilizar nesses genótipos, nesse grupo os componentes frequência de infecção, AACPNP e pústulas por cm² mostraram resultados perto de 0, além de que o componente esporos por pústula foi o mais baixo (0).

Em seguida formou-se um grupo com os genótipos 13 e 18, nesse grupo o período latente foi de 16 dias, a frequência de infecção foi baixa (entre 0.0850 a 0.1382), mas esses genótipos apresentaram alta quantidade de esporos por pústula, que variaram de 1206.0846 a 1154.1214.

O grupo de número três apresentou a maior quantidade de genótipos (23 genótipos), nesse grupo o período latente variou de 10 a 19 dias, dentro de grupo destaca-se o genótipo 06, que apesar de apresentar o período latente com 13 dias, foi o genótipo que apresentou menores resultados de frequência de infecção,

AACPNP e pústula por cm², entretanto para a variável esporo por pústula o genótipo com maior destaque foi o 09. E por último o grupo que apresentou maior susceptibilidade a Ferrugem da Teca foi formado pelos genótipos 8, 12 e 7, nele os genótipos apresentaram período latente de 14 a 15 dias, a frequência de infecção variou de 0.0599 a 0.0837 e o genótipo com maior destaque foi do genótipo 07 que apresentou 2040.4889 esporos por pústula. Resultado parecido ao encontrado por Barceli et al. (2011), que avaliando a severidade do fungo *Olivea neotectonae* por meio da área abaixo da curva de progresso da doença, em dez clones comerciais, no período entre maio de 2009 e julho de 2010, constataram que os clones C9, C8 e C10 foram os mais susceptíveis, os clones C4, C1, C3, C2, C6 e C7 apresentaram resistência intermediária, enquanto que o clone C5 apresentou ser o mais resistente a ferrugem da teca.

O coeficiente de correlação cofenética obtido entre a matriz de distância generalizada de *Mahalanobis* e a matriz de distância cofenética ($r=0,86$) revelou um bom ajuste entre a representação gráfica das distâncias e a sua matriz original (Rohlf, 2000), possibilitando a realização de inferências por meio da avaliação visual da Tabela 3. Neste tipo de representação gráfica, a eficiência com que a matriz original dos dados de distância é representada na figura implica diretamente na possibilidade de sua utilização.

O método de variáveis canônicas tem como propósito a confecção de um gráfico de dispersão bi ou tridimensional que possa identificar genótipos similares, possibilitando simplificar a interpretação dos resultados (Tabela 4).

Tabela 4. Estimativa dos Auto-Valores associados a dispersão para variáveis avaliadas em Genótipos de Teca

Raiz	Raiz %	% Acumulada
1.0899961	46.0557273	46.0557273
0.70652	29.8526695	75.9083968
0.3303636	13.9588881	89.8672849
0.2398083	10.1326458	99.9999308
0.0000016	0.0000692	100.0

A viabilidade de sua interpretação está restrita as variáveis que excedam 80% (Cruz et al., 2004). Nesse estudo, verificou-se que as três primeiras variáveis explicam 89,86% da variação total.

Portanto, justifica-se a utilização do gráfico de dispersão tridimensional pela análise de variáveis canônicas, por proporcionarem uma simplificação estrutural dos dados (Figura 1).

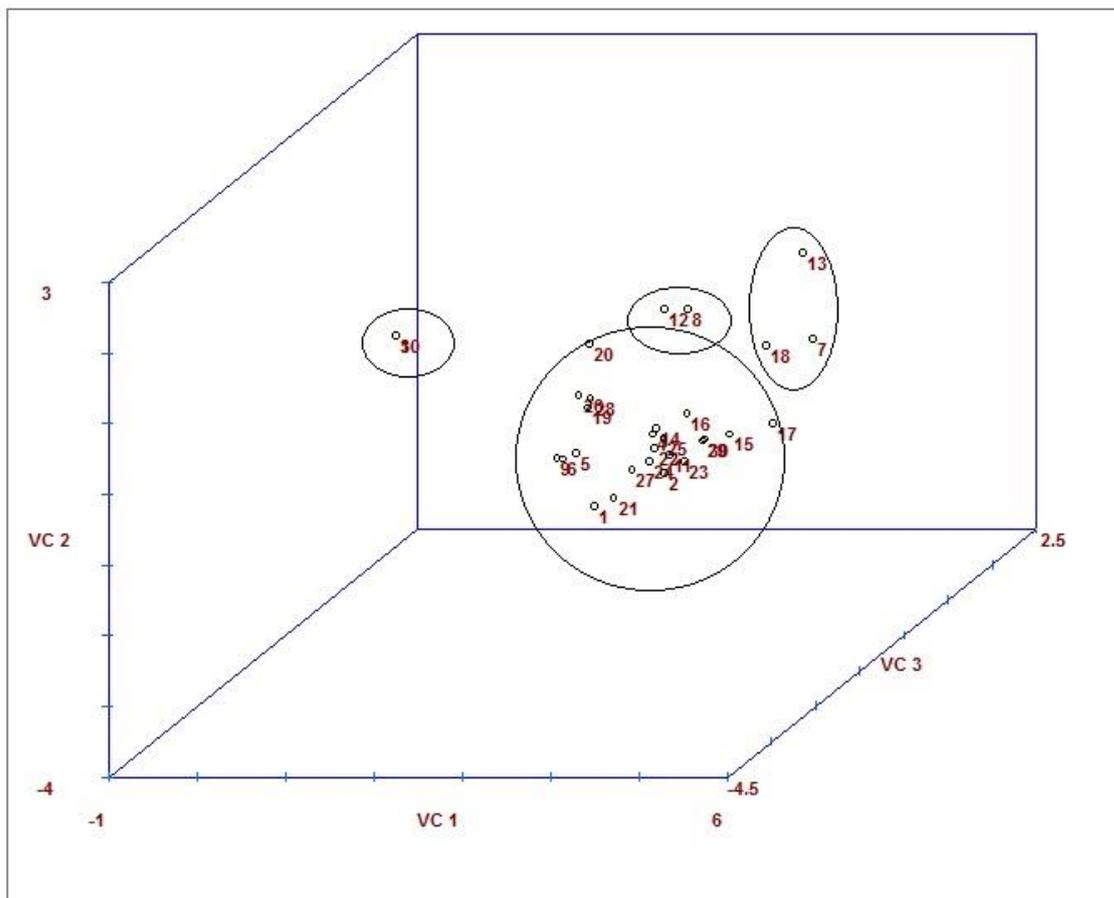


Figura 1. Dispersão gráfica dos 30 genótipos de *Tectona grandis*, em relação às três primeiras variáveis canônicas (VC₁, VC₂ e VC₃).

A dispersão gráfica dos genótipos por meio das variáveis canônicas (Figura 2) apresentou comportamento semelhante ao agrupamento pelo método UPGMA. Entretanto o genótipo 7 que pelo método UPGMA foi alocado no grupo 04, sendo um dos mais susceptíveis para o fungo *Olivea neotectonae*, nesse caso foi agrupado ao grupo dois com os genótipos 13 e 18.

Em relação à contribuição relativa de cada característica de resistência ao fungo *Olivea neotectonae* (Tabela 3), com base no critério proposto por Singh

(1981), verificou-se que, para os 30 genótipos de teca avaliados têm-se, em ordem decrescente de contribuição, as características Período Latente, Número de Pústulas por cm², Esporos por Pústula, AACPNP e Frequência de Infecção. Sendo que as características Período Latente, Número de Pústulas por cm² e Esporos por Pústula contribuem com 82,48 % da distribuição total.

Tabela 3. Estimativa da contribuição relativa das características de resistência ao fungo *Olivea neotectonae* (S.j) para a divergência genética entre 30 genótipos de teca, com base na distância generalizada de *Mahalanobis*

Variáveis	Contribuição relativa	
	S. j.	%
Período Latente	686.500395	33.6125
Pústulas por cm ²	551.408022	26.9981
Esporos por Pústula	446.859692	21.8792
AACPNP	323.493254	15.8389
Frequência de Infecção	34.132863	1.6712

Em alguns plantios comerciais de teca severamente atacados pelo fungo *Olivea neotectonea*, no Panamá e na Costa Rica, foram detectadas árvores que não apresentavam sintomas da doença (ARGUEDAS, 2004). Esse fato também foi evidenciado em plantio de teca no estado de Mato Grosso e nos municípios de Xinguara no Pará e no estado de São Paulo no município de Mococa (GASPAROTTO et al., 2014), assim como registrado por Ferreira & Silva (1982) em experimento envolvendo cerca de onze espécies de *Eucalyptus* spp, na região do Espírito Santo, onde foi constatado que o *Eucalyptus torelliana* e o *Eucalyptus brassiana*, não apresentaram sintomas da doença, esses resultados diferem ao encontrado nesse trabalho, pois não foi evidenciado genótipo de teca imune ao fungo *Olivea neotectonae*.

Entretanto a variabilidade existente no período latente, na frequência de infecção, na AACPNP, no número de pústulas por cm² e no número de esporos por pústula, entre os genótipos de teca avaliados, mostrou grande variação quantitativa nesses caracteres, evidência da ocorrência de resistência parcial nos genótipos testados, pois segundo Parlevliet (1985), a resistência quantitativa ou parcial atua

por meio da redução da taxa de infecção, diminuição da produção de esporos, redução do tamanho das pústulas e aumento do período latente.

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que existe variabilidade genética entre os 30 genótipos de *Tectona grandis*, proveniente da empresa PROTECA em relação a resistência ao fungo *Olivea neotectonae*;

Tanto para o método de Ligação Media entre Grupos (UPGMA) e o método de Variáveis canônicas os genótipos que apresentaram maiores resistência para o fungo *Olivea neotectonea*, foram os genótipos 03 e 10;

Para susceptibilidade houve discordância entre os métodos UPGMA e variáveis canônicas com relação aos resultados encontrados onde o método UPGMA classificou os genótipos 07, 08 e 12 como sendo os mais susceptíveis, entretanto quando analisamos o gráfico de dispersão tridimensional das variáveis canônicas o genótipo 07 foi considerado pouco susceptível, sendo alocado no grupo 02.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARGUEDAS, M. La roya de la teca *Olivea neotectonae* (Rac.): consideraciones sobre su presencia en Panamá y Costa Rica. **Kurú: Revista Forestal**, Costa Rica, v. 1, n.1, p.1-16, 2004.
- ARGUEDAS, M. diagnóstico de plagas y enfermedades em Costa Rica. In: **CONGRESO LATINOAMERICANO IUFRO**. IUFROLAT, 2., La Serena, CH. 2006.
- BARCELI, A. C.; BONALDO, S. M.; RONDON M. N. Monitoramento de Ferrugem (*Olivea tectonae*) em diferentes clones de teca no norte de Mato Grosso. **Tropical Plant Pathology**, Lavras, v.36, p. 274, 2011.
- BALOONI, K. Teak investment programmes: Indian perspective. **Unasyuva**, Roma, n. 201, v. 51, p.22-28, 2000.
- BONALDO, S. M.; BARCELI, A. C.; TRENTO, R. A.; GASPAROTTO, F.; TAFFAREL, C. Relato oficial da ocorrência de *Olivea neotectonae* em teca (*Tectona grandis*) no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 37, n. 3, p. 153, 2011.
- CESPEDES, P. B.; YEPES, M. S. Nuevos registros de royas (Uredinales) potencialmente importantes em Colombia. **Revista Facultad Nacional de Agronomía**, Medellín, V. 60, n. 1, p. 3645-3655, 2007.
- CESPEDES, P.B.; YEPES, M.S.; PARDO-CARDONA, V.M. Pucciniales (Fungi) Rust of Colombia. **Revista Facultad Nacional de Agronomía**, Medellín, 67 (Suplemento 1), S 1-93, 2014.
- CLARCK, R. B. Characterization of phosphates in intact maize roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 23, n. 3, p. 458-460, 1975.
- CRUZ, C.D., REGAZZI, A.J., CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2004. v. 3. 480 p.
- CRUZ, C. D. GENES: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**. 35: 271-276, 2013.
- ESQUIVEL, E. La roya de la teca (*Tectona grandis* L.; Verbenaceae) causada por *Olivea neotectonae* (T. S. & K. Ramak) Mulder (Chaconiaceae) em Panamá: primer reporte em América. **Hoja informativa técnica sobre Ciencias Agrícolas em la Republica de Panamá**, Panamá, v. 3, n. 4, p. 2, 2003.

GASPAROTTO, L.; BENTES, J. L. da S.; PEREIRA, J. C. R. Doenças de espécies florestais arbóreas nativas e exóticas na Amazônia. Brasília, DF: **Embrapa**, p.178, 2014.

GOLFARI, L.; CASER, R. L.; MOURA, V. P. G. **Zoneamento ecológico esquemático para reflorestamento no Brasil**: (2ª aproximação). Brasília: IBDF, 1978. 61 p. (Série Técnica, 11). Projeto PNUD/FAO/IBDF/BRA-45.

GRIFFITHS, H.M.; JONES, D.G. Components of partial resistance as criteria for identifying resistance. **Annals of Applied Biology** 110:603-610. 1987.

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

MATRICARDI, W. A. T. **Efeitos dos fatores do solo sobre o desenvolvimento da teca (Tectona grandis L.F.) cultivada na Grande Cáceres – Mato Grosso**. 1989. 135 f. Dissertação (Mestrado) – ESALQ, Piracicaba.

MITTELMAN, A. Teak planting by smallholders in Nakhon Sawan, Thailand. **Unasyva**, Roma, n. 201, v. 51 p. 62-65, 2000.

NAPPO. Phytosanitary Alert System. **Detection of powdery mildew (Olivea neotectonae), (Rac.) Thirum. Chaconiaceae, in the municipality of Las Choapas, Veracruz, Mexico**. 2005. Disponível em: <<http://www.pestalert.org;espanhol/oprDetail.cfm?opriD=142>>. Acessado em: 26 jan. 2009.

PARLEVLIET, J. E. Resistance of the nonrace-specific type. In: Bushnell WR, Roelfs AP (Ed.) The cereal rusts: diseases, distribution, epidemiology and control. New York: **Academic Press**, p.501-525, 1985.

PÉREZ, M.; LÓPEZ, M. O.; MARTÍ. O. Olivea tectonae, leaf rust of teak, occurs in Cuba. **New Disease Reports**, [London], v. 7, n. 32, 2008. Disponível em: <<http://www.ndrs.org.uk/article.php?id=017032>>. Acesso em 5 out. 2011.

PIERI, C.; PASSADOR, M. M.; FURTADO, E. L.; JUNIOR A. A. C. Ferrugem da teca (*Olivea neotectonae*): novas ocorrências no Brasil e revisão do nome específico, **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 37, n. 4, p. 199-201, 2011.

PINARGOTE, C. B. Roya de la teca em Ecuador. In: MACÍAS, j.; ARGUEDAS, M.; HILJE, L; ZANUNCIO, J. C. (Ed). Plagas Forestales Neotropicales. **Manejo integrado de Plagas y Agroecologia**, San Jose, n. 72, p. 91, 2004. Disponível em:

<<http://web.catie.ac.cr/informacion/RMIP/rev72/Boletin%20PF.pdf>>. acesso em: 26 jan. 2009.

ROHLF, F. J. **NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.1**. New York: Exeter Software, 2000. 83p.

SHANER, G., FINNEY, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**. 67: 1051-1056, 1977.

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

SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxonomy**. 11: 30-40, 1962.

SOOD, S.G.; COMSTOCK, J.C.; GLYNN, N.C. Leaf whorl inoculation method for screening sugarcane rust resistance. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 93, n. 12, p. 1335, 2009.

TEWARI, D. N. Monograph on Teak (*Tectona grandis* Linn. F) Dehra Dun-India, 1999. 478 p.

XAVIER, A. A.; SANFUENTES, E. V.; JUNGHANS, D. T.; ALFENAS, A. C. Resistência de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus nitens* à ferrugem (*Puccinia psidii*). **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.31, n.4, p.731-735, 2007.

5. CONCLUSÕES GERAIS

Os 30 genótipos de teca selecionados provenientes da empresa PROTECA Biotecnologia Florestal, mostraram alta variabilidade genética a partir das análises morfológicas, moleculares e análise conjunta dos dados.

A partir das análise de agrupamento UPGMA e o método de otimização de Tocher, foi observado que os genótipos mais divergentes pelas características morfológicas foram os genótipos 12, 03, 10 e 22, que em ambas as análises agruparam em grupos sozinhos.

O estudo da variabilidade genética pelos marcadores moleculares ISSR, mostraram ser eficientes, sendo que para os 15 *primers* ISSR selecionados foi possível uma amplificação total de 111 fragmentos, sendo 99 bandas polimórficas (89.19%), com uma média de bandas amplificadas por *primers* de 7.4, com destaque para os *primers* UBC 811, UBC 817, UBC 826, UBC 835 e UBC 857, que apresentaram 100% de polimorfismo.

O método de agrupamento UPGMA e o método de otimização de Tocher, obtiveram a formação de quatro e dois grupos respectivamente, sendo que o genótipo 22 mostrou ser o mais divergente, alocando-se em ambas as análises em grupo sozinho.

A análise conjunta dos dados, mostrou que entre os 30 genótipos de teca avaliados, o genótipo 22 é o mais divergente, pois com exceção do agrupamento dos genótipos pelo método UPGMA baseado na distância de Gower obtida pelo procedimento Ward-MLM que formou um grupo com os genótipos 9 e 30, no restante das análises encontrou-se em grupo sozinho.

Para susceptibilidade houve discordância entre os métodos, onde o método UPGMA classificou os genótipos 07, 08 e 12 como sendo os mais susceptíveis, entretanto quando analisamos o gráfico de dispersão tridimensional das variáveis canônicas o genótipo 07 foi considerado pouco susceptível, sendo alocado no grupo 02.

Para a análise de resistência genética ao fungo *Olivea neotectonae*, foi observado alta variabilidade genética, com destaque para os genótipos 03 e 10, que tanto para o método de Ligação Média entre Grupos (UPGMA) e o método de Variáveis canônicas apresentaram ser os mais resistentes.