



Contemporânea

Contemporary Journal
3(12): 32238-32259, 2023
ISSN: 2447-0961

Artigo

ANÁLISE DE TOLERÂNCIA AO FRIO NA GERMINAÇÃO DE GENÓTIPOS DE MILHETO (*Pennisetum glaucum*)

COLD TOLERANCE SCREENING IN GERMINATION OF PEARL MILLET GENOTYPES (*Pennisetum glaucum*)

DOI: 10.56083/RCV3N12-377

Recebimento do original: 24/11/2023

Aceitação para publicação: 28/12/2023

Gabriel Alves de Carvalho

Graduando em Agronomia
Instituição: Universidade Federal de São João del Rei
Endereço: Rodovia MG-424- km 47, MG, CEP: 35701-970
E-mail: alvesgc741@gmail.com

João Gabriel Cristofano Camargo

Graduando em Agronomia
Instituição: Universidade Federal de São João del Rei
Endereço: Rodovia MG-424- km 47, MG, CEP: 35701-970
E-mail: joaocristofano@gmail.com

Danielle de Oliveira Silva

Graduanda em Agronomia
Instituição: Universidade Federal de São João del Rei
Endereço: Rodovia MG-424- km 47, MG, CEP: 35701-970
E-mail: danyoliver194@gmail.com

Guilherme Rodrigues Martins

Graduando em Agronomia
Instituição: Universidade Federal de São João del Rei
Endereço: Rodovia MG-424- km 47, MG, CEP: 35701-970
E-mail: guilhermemartinsgrm@gmail.com



Carine Gregorio Machado Silva

Doutora em Agronomia
Instituição: Embrapa Milho e Sorgo
Endereço: Rodovia MG-424- km 45, MG, CEP:35701-970
E-mail: carine.greg@gmail.com

Alexandre Martins Abdão dos Passos

Doutor em Fitotecnia
Instituição: Embrapa Milho e Sorgo
Endereço: Rodovia MG-424- km 45, MG, 35701-970
E-mail: alexandre.abdao@embrapa.br

RESUMO: A busca por variabilidade genética para condições de estresse ambientais é uma premissa no estabelecimento de estratégias de mitigação e adaptação para os atuais cenários de agravamento das mudanças climáticas e aumento de eventos extremos. O milheto é considerada uma planta adaptada para condições ambientais marginais de calor e ausência de água, mas pouco se sabe sobre sua tolerância ao frio. O objetivo do trabalho foi avaliar a resposta de genótipos quanto à capacidade de germinar e emitir plântulas normais a partir de sementes submetidas ao teste frio modificado. Foram utilizados lotes de sementes de diferentes genótipos de milheto (*Pennisetum glaucum*) provenientes do Banco Ativo de Milheto na Embrapa, coletadas em diversas regiões da África, Índia, Estados Unidos e Brasil. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado utilizando-se 3 replicadas, tendo-se 50 sementes por repetição. A partir dos dados obtidos procedeu-se uma análise de regressão, PCA, de agrupamento por K-means, agrupamento hierárquico, e correlação. O agrupamento por k-means gerou 3 grupos nos quais foram classificados como suscetíveis ao frio 26 materiais (39.39%), como intermediários 15 materiais (22.73%) e como tolerantes 25 materiais (37.88%). A regressão linear indicou uma relação diretamente proporcional entre germinação em condições ótimas e após exposição ao frio, sendo o efeito do frio mais acentuado nos genótipos intermediários, que exibiram a relação mais expressiva ($R^2 = 0.74$) entre todos os clusters. O dendrograma apresentou uma ampla variabilidade entre os acessos. Conclui-se que há variabilidade genética ponderada entre os acessos avaliados quanto à resposta ao frio durante a germinação.

PALAVRAS-CHAVE: *Pennisetum glaucum*, Resistência ao Frio, Germinação, Recursos Genéticos.

ABSTRACT: The search for genetic variability for environmental stress conditions is a premise in establishing mitigation and adaptation strategies for current scenarios of climate change and an increase in extreme events. Pearl millet is considered a plant adapted to marginal environmental conditions of heat and lack of water, but little is known about its tolerance to



cold. The objective of the work was to evaluate the response of genotypes regarding the ability to germinate and produce normal seedlings from seeds subjected to the cold conditions. Seed lots of different millet genotypes (*Pennisetum glaucum*) were used from the Active Genebank at Embrapa, collected from different regions of Africa, India, the United States and Brazil. The experiment was carried out in a completely randomized design using 3 replicates, with 50 seeds per replicate. From the data obtained, regression analysis, PCA, K-means and hierarchical clustering, and correlation were performed. Clustering by k-means generated 3 groups in which 26 materials (39.39%) were classified as susceptible to cold, 15 materials as intermediate (22.73%) and 25 materials as tolerant (37.88%). Linear regression indicated a directly proportional relationship between germination under optimal conditions and after exposure to cold, with the effect of cold being more pronounced in intermediate genotypes, which exhibited the most significant relationship ($R^2 = 0.74$) among all clusters. The dendrogram showed wide variability between accessions. It is concluded that there is high genetic variability among the accessions evaluated regarding the response to cold during germination.

KEYWORDS: *Pennisetum glaucum*, Cold Resistance, Germination, Genetic Resources.



Artigo está licenciado sob forma de uma licença
Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional.

1. Introdução

Apesar de ser considerado uma planta adaptada às condições de estresse ambientais, o milheto apresenta variabilidade genética que confere plasticidade morfológica e fisiológica entre genótipos na capacidade de tolerar temperaturas extremas, dentre outros fatores ambientais restritivos (Shrestha et al., 2023). Essa variabilidade genética permite que os melhoristas de plantas selecionem e desenvolvam cultivares mais resistentes e adaptadas às condições de eventos climáticos extremos, sendo especialmente importante em regiões onde as temperaturas podem ser limitantes para o crescimento do milheto (Assis et al., 2017, Serba et al.,



2017, Satyavathi et al., 2021).

Estudos têm sido realizados para identificar genótipos de milho com maior tolerância aos estresses bióticos e entender os mecanismos genéticos e fisiológicos que contribuem para essa tolerância (Choudhary et al., 2020; Singh & Nara, 2023). Por sua vez, a seleção de cultivares de milho com maior tolerância à temperaturas extremas pode ajudar a expandir a área de cultivo dessa espécie, melhorar a adaptação a ambientes marginais e aumentar a produtividade em regiões onde as condições biofísicas podem limitar o crescimento da cultura.

O milho é sensível a baixas temperaturas, especialmente durante os estágios iniciais de desenvolvimento e crescimento, que tem no geral, melhor desempenho agrônômico quando em temperaturas entre 25°C e 30°C (Ong & Monteith, 1985; Djanaguiraman et al., 2018).

O frio pode causar atraso no desenvolvimento das plantas, menor altura e menor produção de biomassa. Temperaturas baixas podem reduzir a taxa de germinação das sementes de milho, resultando em uma menor emergência das plântulas e pior estabelecimento da cultura no campo com reflexos negativos para o rendimento das lavouras.

Nesse sentido, a utilização de métodos de triagem (screening) para identificar materiais mais resistentes ou tolerantes ao frio em bancos de germoplasmas, visa e preconiza ser uma ferramenta relativamente rápida e de baixo custo na identificação de fontes de tolerância ou resistência ao calor (Govindaraj et al., 2010; Jacob et al., 2022). Nos cereais, os testes de exposição ao frio nas fases fenológicas iniciais das culturas, tem sido utilizado como forma de identificar genótipos e mesmo mecanismos fisiológicos de tolerância ao frio, nas culturas do arroz (Najeeb et al., 2021), trigo (Ahad et al., 2023), dentre outras espécies.

No milho, a adaptação do teste frio pode representar método de predição de genótipos mais tolerantes, pela exposição das sementes e



plântulas a baixas temperaturas (5 a 10°C) por um período específico (7 dias ou mais), seguido pela avaliação da germinação, emergência ou desempenho das plantas após a exposição ao frio (Krzyzanowski et al., 2021). O teste de frio adaptado pode ajudar a identificar genótipos com melhor capacidade de germinar, emergir apropriadamente e estabelecer-se em condições de baixas temperaturas, sendo fonte de variabilidade em programas de melhoramento genético para desenvolver cultivares mais resistentes à essa condição de ambiente.

O objetivo do trabalho foi avaliar o desempenho de sementes de diversos acessos do banco ativo de germoplasma na Embrapa, submetidas ao frio durante o processo de germinação.

2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido no laboratório de análises de sementes da Embrapa Milho e Sorgo, localizado em Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil. O laboratório possui instalações adequadas e equipamentos necessários para a realização de testes de germinação e avaliação da qualidade das sementes (Renasem MG35456). Foram coletadas 66 amostras de sementes de diferentes genótipos de milho (*Pennisetum glaucum*) provenientes do Banco Ativo de Milho na Embrapa, coletadas em diversas regiões da África, Índia, Estados Unidos e Brasil. O experimento foi conduzido em DIC com 3 repetições. Usou-se 50 sementes por repetição.

Acessos avaliados: NPM 3 POP, 413 A, 413 B, NPM 2 POP, 843 A 792068 A1, 0183 R, 843 792068 B, ICMP 88872, TIFT 23 DA, TIFT 23 DB, BKM 1163, NPM 1 POP, TIFT 239 DB, LGDIB 10, 890083 R1, IPC 001495, ICMB 91777, ICMV IS 88210, ICMV 93074, IP 1266, ICMV 93302, HI TIP 88, PI 518646 TIFLEAF 2, IP 1384, IPC 001462, IPC 000021, IP 1846, IP 2325, SYNTHETIC 1, EHITIP 92, ESRC II, IP 1434, SERERE 4A, IP 1495, IP 1688,



NCD2 90 MISO, IPC 001647, IPC 001648, IP 1546, ENELC, BARMER POP 94, J 1197, IP 1916, ICMP 94884, SSC H76, IP 1230, IP 1531, IP 2358, IPC 001645, IPC 001646, CZP IC 311, PI 295139, SDMV 93032, IP 1380, CZP IC 416, IP 1923, IP 1859, MC K77, IP 1467, IP 1883, IP 1907, RCB IC 926, CASSADY, IP 1619, RCB IC 944, IP 1662, IP 1691 e IPC 001103.

As amostras foram armazenadas em condições apropriadas antes do início do experimento (10°C e 30%UR) em câmaras frias. As sementes retiradas do foram previamente desinfetadas com uma solução de hipoclorito de sódio a 1% durante 5 minutos para eliminar possíveis patógenos. Em seguida, as sementes foram lavadas três vezes com água destilada e secas ao ar em ambiente controlado (25°C).

Para o teste de germinação, rolos de papel umedecidos com água destilada e, em seguida, 50 sementes de milho foram distribuídas uniformemente ao longo do rolo e colocado para em um germinador Mangelsdorf regulado para temperatura ótima (25°C). Ao 7º dia após a semeadura foi realizada a contagem de plântulas normais (que apresentam características morfológicas típicas etodas as estruturas primárias aparentes).

O teste de frio modificado foi realizado semeando 50 sementes de milho em rolos de papel umedecido com água destilada, distribuindo-as uniformemente ao longo do rolo. Em seguida, os rolos foram enrolados e colocados em sacos plásticos para evitar a evaporação da água. Os sacos foram então mantidos em uma câmara fria com temperatura e umidade controladas a 10°C, para simular condições de frio. As sementes foram avaliadas quanto à germinação e desenvolvimento das plântulas após 7 dias.

Os dados obtidos foram submetidos Os dados de germinação de sementes (%) e testefrio: teste de vigor por estresse ao frio (%) foram avaliados em conjunto com os dados de DPF: dias para o florescimento (dias), comp_folha: comprimento das folhas (cm), lag_folha: largura das



folhas (cm), alt_pta: altura de plantas (cm), comp_pend: comprimento do pedúnculo, espess_panic: espessura da panícula (cm), comp_panic: comprimento da panícula (cm), total_folha: número total de folhas (unidade), perfilho_prod: número de perfilhos produtivos (unidade), total_perfic: número de perfilhos (unidade), espess_caule: espessura do caule (cm), comp_caule: comprimento do caule (cm) e PMS (peso de mil sementes).

A partir dos dados obtidos procedeu-se uma análise de regressão, análise de componentes principais PCA, de agrupamento por K-means, agrupamento hierárquico, e correlação. A hipótese é que o teste de vigor por estresse ao frio pode ser usado para identificar materiais mais tolerantes ao frio, e a expectativa é encontrar potenciais materiais para melhoramento genético.

A partir da análise de regressão, pode-se verificar relação significativa linear simples entre o teste de germinação e o teste frio. Foi realizada uma análise de componentes principais visando reduzir a dimensionalidade dos dados e identificar as principais variáveis que explicam a maior parte da variação nos dados. No gráfico do PCA, os pontos foram identificados de acordo com os clusters gerados pelo algoritmo K-means. Pelo método de classificação não supervisionada K-means os acessos de milho foram divididos em três grupos. Esses grupos podem ser interpretados como:

Tolerantes ao frio: Acessos com maior capacidade de emergir após condições de estresse por frio.

Intermediários: Acessos com capacidade de emergir após condições de estresse por frio, mas não tão eficientes quanto os tolerantes.

Suscetíveis ao frio: Acessos com menor capacidade de emergir após condições de estresse por frio.

Para analisar a similaridade entre os acessos de milho foi realizada análise multivariada e a construção de um dendrograma. Para cálculo da

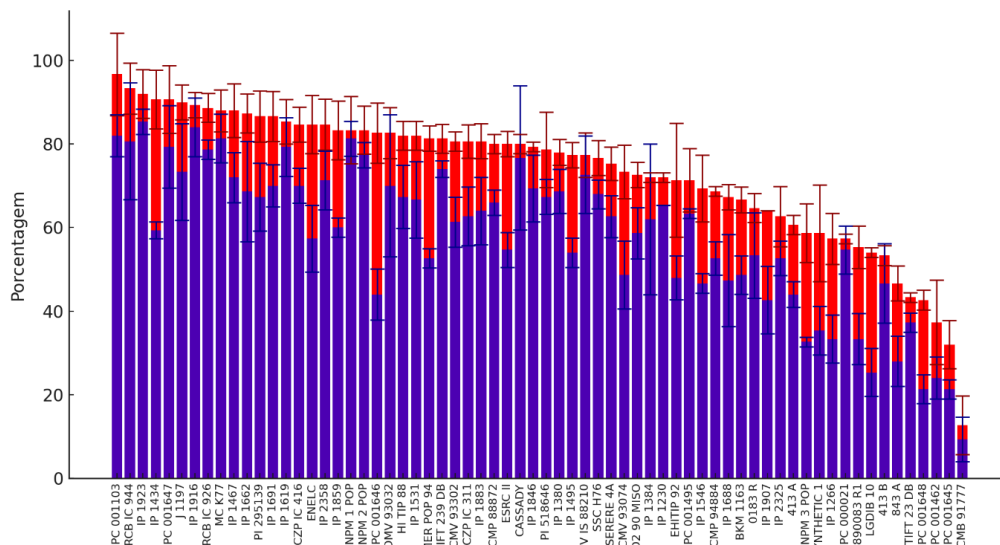


distância entre os pontos de dados foi calculada utilizando o algoritmo de distância euclidiana. Foi utilizado o algoritmo hierárquico aglomerativo de Ward, minimizando a soma dos quadrados das diferenças intragrupos. Por sua vez, a matriz de correlação de Pearson foi performada sobre as variáveis respostas

3. Resultados e Discussão

Os lotes de sementes dos genótipos testados apresentaram comportamento diferenciado para o teste de germinação e frio.

Figura 1 – Germinação (plântulas normais em %) e germinação após estresse por frio de acessos de milho.



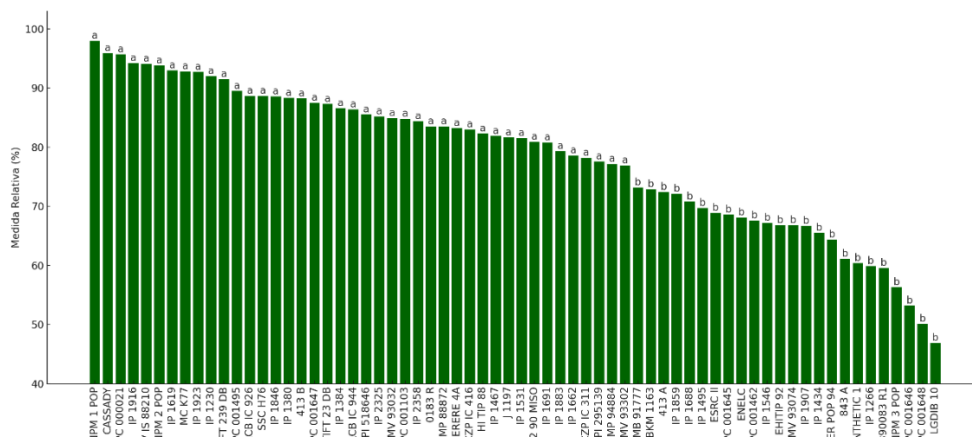
Fonte: autores

Na análise dos dados de germinação e teste frio dos genótipos de milho, observamos que o genótipo IPC 001103 apresentou a maior taxa de germinação, com 96.67% de germinação, enquanto o genótipo ICMB 91777 teve a menor taxa, com apenas 12.67%. No teste frio, o genótipo IP 1923



se destacou com a maior taxa, alcançando 85.33%, indicando uma alta resistência ao frio. Por outro lado, o genótipo ICMB 91777 mostrou o menor valor de germinação após o frio, com uma taxa de apenas 9.33%.

Figura 2 – Razão entre porcentagem de plântulas germinadas após estresse por frio e potencial germinativo de sementes de acessos de milho.



Fonte: autores

A análise dos dados de medida relativa, entre a germinação em condições ideias e sob estresse por frio, para diversos genótipos de milho revela uma distinção clara entre dois grupos ($p < 0.05$ Scott Knott). O grupo 'a' inclui genótipos como "NPM 1 POP", "CASSADY", "IPC 000021", e "IP 1916", apresenta medidas relativas maiores, variando de 76.9% a 98.0%, com uma média de 86.39%. Estes valores indicam uma forte adaptabilidade e vigor em condições de estresse, como baixas temperaturas, sugerindo uma combinação apropriada de resistência ao frio. Estas características são desejáveis para cultivos em ambientes que enfrentam variações climáticas ou condições adversas durante a semeadura e o processo germinativo e de emergência. A consistência nas medidas relativas maiores no grupo 'a' pode ser particularmente relevante para programas de melhoramento genético, indicando genótipos que podem ser utilizados para desenvolver variedades e híbridos de milho mais resilientes.

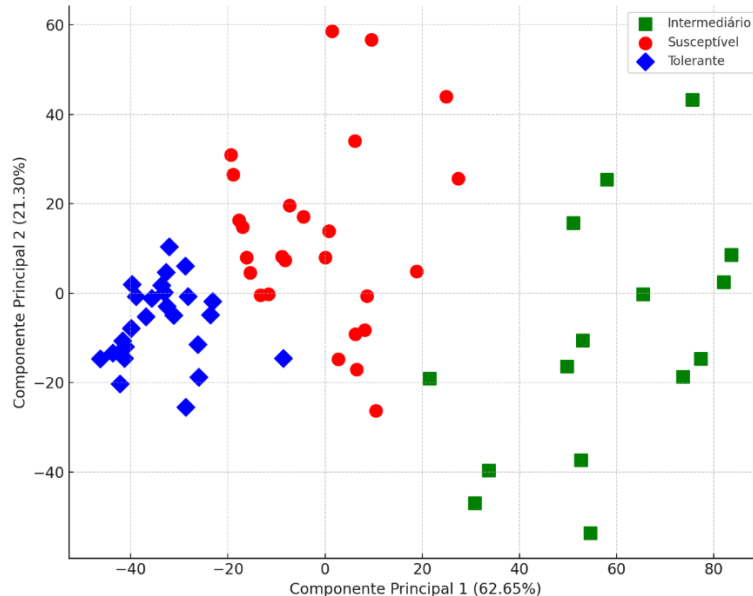


O grupo 'b', por outro lado, consiste em genótipos com medidas relativas menores, indicando uma menor adaptabilidade às condições de estresse. Este grupo, que inclui genótipos como "ICMB 91777", "BKM 1163", e "413 A", tem medidas relativas variando entre 46.9% e 73.2%, com uma média de 64.55%. A menor média de medida relativa do grupo 'b', que é cerca de 21.84% inferior à média do grupo 'a', ressalta a variabilidade natural entre os genótipos de milho em resposta a condições ambientais adversas pelo frio.

Ao se analisar por meio de multivariada as demais características agrônômicas e atributos dos mensurados nos acessos, verificou-se a formação de três grupos de genótipos (cluster) distribuídos em relação aos componentes principais (Figura 3). A Análise de Componentes Principais (PCA) resultou em uma boa visualização da distribuição dos genótipos de milho. Dois componentes principais foram usados, e juntos, eles explicaram aproximadamente 84% da variação total nos dados (62.65% pelo PC1 e 21.30% pelo PC2).



Figura 3 – Análise de componentes principais com identificação dos ageótipos baseados na classificação K-means para estresse ao frio.



Fonte: autores

No Cluster 1, estão presentes os genótipos que se destacam por apresentar uma média de germinação e um desempenho no teste frio que podem ser classificados como moderados. Destaca-se no grupo as características morfológicas distintas, especialmente a altura das plantas que tende a ser intermediárias: '0183 R', '413 A', '413 B', '843 A', '890083 R1', 'BKM 1163', 'ICMB 91777', 'ICMP 88872', 'IP 1531', 'IP 1691', 'IP 1846', 'IP 1859', 'IP 1883', 'IP 1916', 'IP 1923', 'IP 2358', 'IPC 001495', 'LGDIB 10', 'NPM 1 POP', 'NPM 2 POP', 'NPM 3 POP', 'TIFT 23 DB', 'TIFT 239 DB'.

Por outro lado, no cluster 0, reúne genótipos com características diferentes, em que a germinação e os resultados do teste frio são inferiores aos observados no Cluster 1, classificados como susceptíveis: BARMER POP 94', 'EHITIP 92', 'ENELC', 'ESRC II', 'HI TIP 88', 'ICMP 94884', 'ICMV 93074', 'ICMV 93302', 'ICMV IS 88210', 'IP 1266', 'IP 1384', 'IP 1434', 'IP 1495', 'IP 1546', 'IP 1688', 'IP 1907', 'IP 2325', 'IPC 000021', 'IPC 001462', 'IPC



001645', 'IPC 001646', 'IPC 001648', 'PI 518646', 'SERERE 4A', 'SYNTHETIC 1', 'NCD2 90 MISO'. Essa diferença, pode ser crucial para determinar a adequação desses genótipos a certos ambientes ou condições climáticas (Shrestha et al., 2022). Do ponto de vista morfológico, este cluster se diferencia principalmente pela menor altura das plantas e pelo comprimento do caule maior. Estas características podem torná-las mais adequadas para ambientes com espaço limitado ou para práticas agrícolas que favoreçam plantas mais baixas e maiores densidades de semeadura.

Finalmente, o Cluster 2 se destaca por agrupar genótipos com as maiores médias tanto em germinação quanto no teste frio. Este padrão sugere uma possível maior tolerância ao frio, um atributo valioso em regiões com invernos rigorosos ou variações climáticas abruptas (Oliveira et al., 2020). Além disso, este cluster também apresenta a maior altura das plantas entre os grupos estudados: 'CASSADY', 'CZP IC 311', 'CZP IC 416', 'IP 1230', 'IP 1380', 'IP 1467', 'IP 1619', 'IP 1662', 'IPC 001103', 'IPC 001647', 'J 1197', 'MC K77', 'PI 295139', 'RCB IC 926', 'RCB IC 944', 'SDMV 93032', 'SSC H76', 'IP 2358'. Esta característica pode ser um indicativo de vigor e robustez, possivelmente relacionado à sua maior tolerância ao frio. Havendo ainda implicações no manejo agrícola, já que plantas mais altas podem exigir diferentes métodos de cultivo e manejo (maiores adubações nitrogenadas por exemplo) e gerar maior produção de biomassa, adequado para produção de silagem e palhadas por exemplo (Oliveira et al., 2022).

Algumas espécies de plantas possuem mecanismos para tolerar o estresse por frio (Jacob et al., 2022). Esses mecanismos incluem a produção de proteínas de choque (Gimalov et al., 1996), o acúmulo de solutos compatíveis e a dormência. As proteínas térmicas protegem as células contra os danos causados pelo frio. Os solutos compatíveis ajudam a proteger as células da desidratação e do estresse osmótico, enquanto a dormência é um estado de inatividade que permite que as sementes sobrevivam a condições



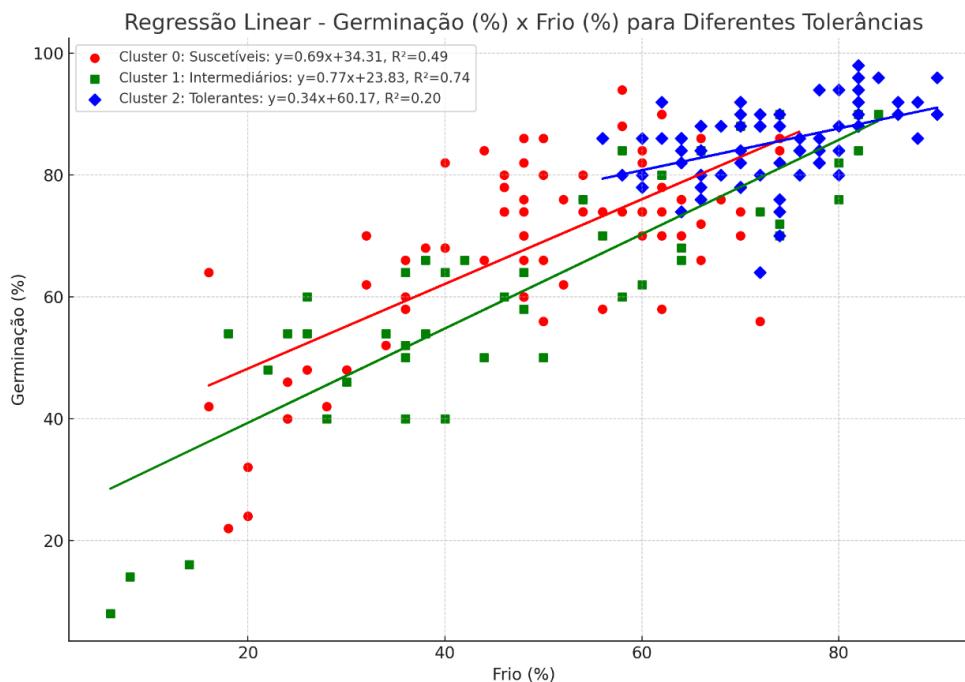
adversas, como o frio (Schubert et al., 2020).

A categorização em clusters não apenas auxilia a compreender melhor a dinâmica das variáveis no desenvolvimento dos genótipos, mas também oferece informações práticas na agricultura. Compreender as diferenças e semelhanças entre os clusters pode orientar decisões sobre cultivo, seleção de espécies e estratégias de melhoramento genético, contribuindo para a otimização de recursos e a maximização da produtividade agrícola.

Para investigar a dinâmica de germinação dos genótipos dentro de cada agrupamento, foram conduzidas análises de regressão linear para os clusters (Figura 4). Estas análises buscaram explorar a relação entre o desempenho dos genótipos em testes de germinação sob condições ótimas e sua resposta após a exposição ao frio. Essa abordagem permite uma compreensão mais aprofundada e matizada de como diferentes grupos de genótipos (clusters) reagem a variáveis defindoras dos agrupamentos (Figura 4).



Figura 4 – Regressões lineares dos cluster avaliando relação entre potencial germinativo e teste de estresse (vigor) em sementes de acessos da coleção nuclear de milho



Fonte: autores

Verifica-se relação positiva entre a germinação em condições ótimas e após estresse por frio nas sementes nos três grupos. Sementes com alto vigor geralmente apresentam melhor desempenho em ambas as condições, ótimas e após o estresse por frio. O vigor da semente é uma medida da saúde e da capacidade da semente de germinar, emergir e produzir plântulas robustas (Krzyzanowski et al., 2021). Sementes com alto vigor possuem reservas energéticas elevadas, membranas celulares intactas e sistemas de reparo de DNA eficientes, o que lhes permite superar os desafios do estresse por frio e germinar com sucesso (Schubert et al., 2020). O estresse por frio pode acelerar a deterioração da semente, reduzindo o vigor e a viabilidade. A deterioração da semente é um processo gradual que diminui a capacidade da semente de germinar e produzir plântulas normais. O frio pode danificar as membranas celulares, as proteínas e o DNA da semente, levando à perda



de vigor e viabilidade. Portanto, como regra geral, sementes submetidas a testes de vigor por estresse apresentam valores menores que as de germinação (Krzyzanowski et al., 2021.).

O estresse por frio também pode afetar a germinação de outras maneiras, como atrasando a germinação, reduzindo a taxa de germinação e produzindo plântulas anormais. O frio pode retardar a absorção de água pela semente, o que é necessário para a germinação. O frio também pode danificar o embrião da semente, o que pode reduzir a porcentagem de sementes que germinam. Além disso, o frio pode causar o desenvolvimento de plântulas com anormalidades, como raízes curtas ou folhas deformadas.

O grupo dos Suscetíveis, indicado por círculos vermelhos, apresenta uma relação moderada entre frio e germinação, com um coeficiente de determinação (R^2) de 0.49. Isto sugere que quase metade da variabilidade na germinação pode ser explicada pela exposição ao frio. A equação da regressão linear para este grupo ($y = 0.69x + 34.31$) indica um aumento gradual na germinação com o aumento do frio. Por outro lado, os Intermediários (quadrados verdes) mostram uma correlação mais forte ($R^2 = 0.74$), o que indica que a tolerância ao frio tem um impacto mais pronunciado na germinação para este grupo. A inclinação da linha de regressão ($y = 0.77x + 23.83$) é mais acentuada que a dos Suscetíveis, o que sugere uma maior sensibilidade à variação de frio. Por sua vez, os materiais mais tolerantes apresentam a menor correlação ($R^2 = 0.20$), indicando que a germinação é menos influenciada pelas variações de frio neste grupo. A equação $y = 0.34x + 60.17$ mostra um aumento mais lento na germinação com o aumento do frio em comparação aos outros grupos.

Realizou-se a correlação das variáveis respostas. A correlação não implica causalidade, ou seja, a relação entre as variáveis pode ser influenciada por outros fatores e não apenas por uma relação direta entre elas. Verificou-se alta correlação (acima de 75%) nas germinações e teste



frio (0,8734659) (Figura 5). O mapa de calor mostra a correlação entre as diferentes variáveis do conjunto de dados.

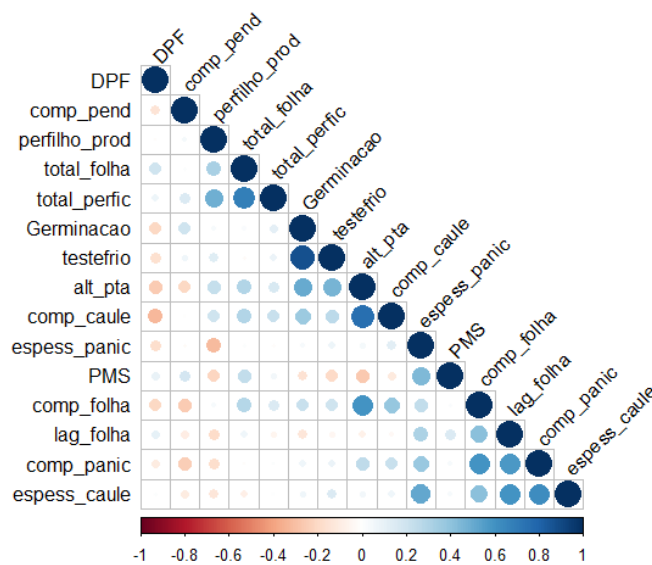
A variável de germinação relativa, que pondera por meio da relação entre o teste frio e a germinação a capacidade de germinar após exposição ao frio com a qualidade fisiológica inicial do lote, apresenta as seguintes correlações com as outras variáveis.

Observou-se uma alta correlação positiva entre o teste de frio e a germinação. Essa forte ligação sugere que os mecanismos de resistência ao frio das plantas estão intimamente relacionados à sua eficiência em germinar em ambientes frios, destacando a importância do teste de frio como uma ferramenta preditiva para avaliar a viabilidade das sementes em condições adversas. Além disso, constatou-se uma correlação moderada com a germinação geral, indicando que um aumento nos índices de germinação tende a se traduzir em uma melhor relação teste frio/germinação. Essa descoberta é especialmente relevante para programas de melhoramento de plantas, onde a seleção de genótipos com altas taxas de germinação pode ser um critério eficaz para garantir uma boa performance em condições de baixa temperatura.

Por outro lado, as correlações com outras características morfológicas e de crescimento, como o comprimento da folha, altura da planta, ou peso das sementes, mostraram-se baixas ou insignificantes. Essa observação sugere que a relação entre o teste frio e a germinação não é significativamente afetada por esses atributos. Tal resultado implica que a tolerância ao frio e a capacidade de germinação podem ser influenciadas por fatores genéticos ou bioquímicos mais que por características morfológicas externas, orientando assim a pesquisa e o desenvolvimento em direção a abordagens mais focadas em aspectos genéticos e adaptativos.



Figura 5 – Correlações entre variáveis respostas de acessos da coleção nuclear de milho



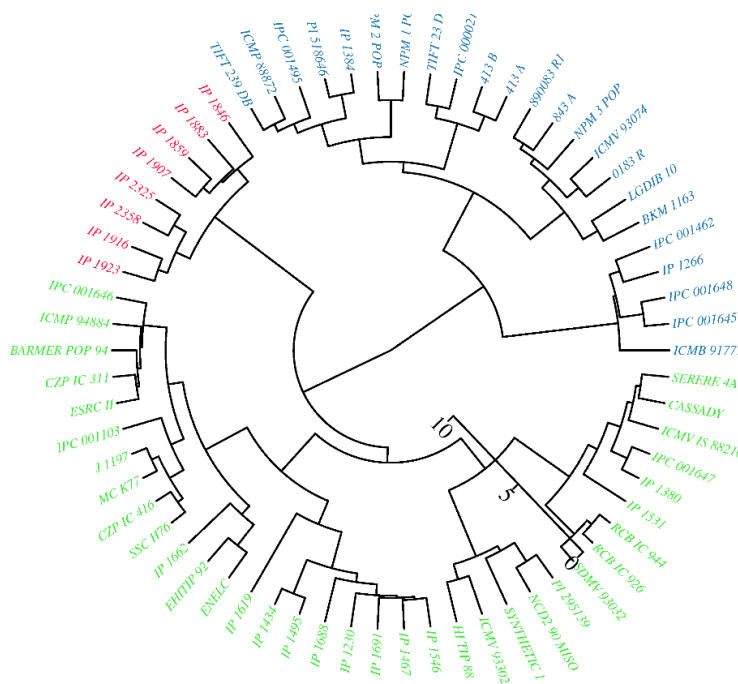
Fonte: autores

Observou-se correlação significativa e em altura de plantas e comprimento de caule (0,7542246). Isso significa que essas variáveis estão altamente correlacionadas entre si, indicando que mudanças em uma delas podem estar associadas a mudanças na outra. Essa informação pode ser importante para o desenvolvimento de estratégias de seleção de plantas mais ou menos tolerantes a estresses abióticos, como vendavais que podem gerar acamamento, por exemplo. Além disso, essa correlação pode indicar uma relação de causa e efeito entre as variáveis, o que pode ser explorado em estudos futuros para entender melhor os mecanismos envolvidos na resposta das plantas a determinados estresses ambientais.

O dendrograma abaixo mostra como os genótipos de milho são agrupados com base em suas semelhanças e diferenças nas variáveis analisadas. Cada linha vertical representa um genótipo, e a altura na qual as linhas se conectam indica a distância ou dissimilaridade entre os grupos. Quanto mais baixo no gráfico as linhas se conectam, mais semelhantes são os genótipos.



Figura 6 - Dendrograma de 66 acessos de milhoeto da coleção nuclear Embrapa Milho e Sorgo.



Fonte: autores

Pela análise dos dados dos acessos no dendrograma (figura 6) e gráfico de dispersão pelo k-means (figura 3), verifica-se um panorama da diversidade genética e adaptabilidade dos genótipos ao frio. A classificação do dendrograma (grupos azul, verde e vermelho) cruzada com a classificação em clusters, demonstra padrões distintos de resistência e adaptação. No grupo azul, com um total de 20 acessos, 12 acessos, a maioria (60%) portanto, é classificada como 'Intermediário', sugerindo uma adaptação moderada a condições de frio. Adicionalmente, uma parcela significativa (8 ou 40%) é classificada como 'Suscetível'. Notavelmente, nenhum acesso neste grupo é classificado como 'Tolerante na clusterização'.



O grupo verde se destaca por uma forte tendência à tolerância, com a maioria dos acessos (51.28%, 20 de 39) classificados como 'Tolerante'. Além disso, uma quantidade considerável (41.03%, 16 de 39) é classificada como 'Suscetível', e uma minoria (7.69%, 3 de 39) como 'Intermediário'. Por sua vez, o grupo vermelho, embora com uma amostra menor, mostra uma clara tendência para a tolerância (71.43%, 5 de 7 acessos). Uma quantidade menor é classificada como 'Suscetível' (28.57%, 2 de 7), e nenhuma como 'Intermediário'. A similaridade nos nomes dos acessos deste grupo pode sugerir características genéticas comuns que favorecem essa tendência. O grupo verde se sobressai pela tendência à tolerância, o grupo azul mostra uma gama equilibrada entre intermediário e suscetível, e o grupo vermelho, embora limitado em número, inclina-se fortemente para a tolerância.

A realização de screening rápidos permitem descobertas que não apenas sublinham a complexidade da genética do milho, mas também apontam para estratégias futuras de seleção de genótipos para o melhoramento, particularmente em face dos desafios impostos pelas mudanças climáticas e pela necessidade de culturas mais resilientes.

4. Conclusões

- Foram verificados 25 acessos (37,7% dos avaliados) que apresentam maior expressão de germinação quando submetidos ao estresse por frio durante a fase de germinação (embebição) por meio do algoritmo K-means.
- Os genótipos classificados como intermediariamente suscetíveis ao frio na germinação, exibem uma relação mais expressiva ($R^2 = 0.74$), sugerindo que, neste grupo, a tolerância ao frio desempenha um papel mais significativo na influência da germinação.



- A análise combinada do dendrograma e k-means revela que, enquanto um conjunto do dendrograma relaciona-se com forte tendência para a tolerância, refletindo a diversidade genética e as diferentes capacidades de adaptação ao frio entre os genótipos.



Referências

AHAD, A., GUL, A., BATOOL, T.S. et al. Molecular and genetic perspectives of cold tolerance in wheat. *Mol Biol Rep* 50, 6997–7015 (2023). <https://doi.org/10.1007/s11033-023-08584-1>

ASSIS, RENATO LARA, DE FREITAS ROGÉRIO SOARES, MASON STEPHENC. PEARL MILLET PRODUCTION PRACTICES IN BRAZIL: A REVIEW. *Experimental Agriculture*. 2018;54(5):699-718. <https://doi.org/10.1017/S0014479717000333>

CHELLAPILLA, T.S., AMBAWAT, S., GURJAR, N.R. (2022). Millets: Role and Responses Under Abiotic Stresses. In: Abdel Latef, A.A.H. (eds) *Sustainable Remedies for Abiotic Stress in Cereals*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-19-5121-3_8

DJANAGUIRAMAN, M., PERUMAL, R., CIAMPITTI, I. A., GUPTA, S. K., AND PRASAD, P. V. V. (2018) Quantifying pearl millet response to high temperature stress: thresholds, sensitive stages, genetic variability and relative sensitivity of pollen and pistil. *Plant, Cell & Environment*, 41: 993–1007. <https://doi.org/10.1111/pce.12931>

GIMALOV, F. P.; CHEMERIS, A. V. ; VAKHITOV, V. A. Synthesis of cold shock proteins in wheat tribe seedlings of the family Poaceae. *Russian Journal of Plant Physiology*, v.43, n.228-231, 1996

GOVINDARAJ, M.; SHANMUGASUNDARAM, P.; SUMATHI, P.; MUTHIAH, A.R. Simple, Rapid And Cost Effective Screening Method For Drought Resistant Breeding In Pearl Millet. *Electronic Journal of Plant Breeding*, v. 1, n. 4, p. 590-599, jul. 2010. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168945219307885>

Jacob, J., Sanjana, P., Visarada, K.B. et al. Seedling Stage Heat Tolerance Mechanisms in Pearl Millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.). *Russ J Plant Physiol* 69, 128 (2022). <https://doi.org/10.1134/S1021443722060140>

KRZYZANOWSKI, Francisco Carlos (Ed.); VIEIRA, Roberval Daiton (Ed.); FILHO, Julio Marcos (Ed.); FRANÇA NETO, José de Barros (Ed.). *Vigor de sementes: Conceitos e Testes*. 2ª ed. Londrina: Abrastes, 2021. 601 p. ISBN 9786599200007.

Najeeb, S., Mahender, A., Anandan, A., Hussain, W., Li, Z., & Ali, J. (2021). Genetics and Breeding of Low-Temperature Stress Tolerance in Rice. *Rice Improvement*.



OLIVEIRA, Maurílio Fernandes de; ASSIS, Renato Lara de; NETTO, Déa Alécia Martins. Milheto e os preceitos da Economia Verde. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2020. 18 p. : il. (Documentos / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1518-4277; 248). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1122743/1/doc-248.pdf> .

OLIVEIRA, P. S. d'; TARDIN, F. D.; MACHADO, J. R. de A. BRS 1501, BRS 1502 e BRS 1503: cultivares de milheto para uso forrageiro, produção de grãos e de palha em plantio direto. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2022. 10 p. (Embrapa Gado de Leite. Comunicado Técnico, 94). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/234236/1/COT-94-Cultivares-de-milheto-para-uso-forrageiro-producao-graos-e-palha.pdf> .

ONG, C.K.; MONTEITH, J.L. Response of pearl millet to light and temperature. *Field Crops Research*, v. 11, p. 141-160, 1985. ISSN 0378-4290. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(85\)90098-X](https://doi.org/10.1016/0378-4290(85)90098-X)

Satyavathi, C. T., Ambawat, S., Khandelwal, V., Srivastava, R. K. (2021). Pearl millet: A climate-resilient nutricereal for mitigating hidden hunger and provide nutritional security. *Front. Plant Sci.*, 12, 1828. <https://doi:10.3389/fpls.2021.659938>

SCHUBERT, Marian et al. To Coldly Go Where No Grass Has Gone Before: A Multidisciplinary Review of Cold Adaptation in Poaceae. *Annual Plant Reviews*, v. 3, p. 523-562, 2020. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com>. Acesso em: [data de acesso]. <https://doi:10.1002/9781119312994.apr0739>

Serba, D.D., Perumal, R., Tesso, T.T. and Min, D. (2017), Status of Global Pearl Millet Breeding Programs and the Way Forward. *Crop Science*, 57: 2891-2905. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.11.0936>

SHRESTHA, Nikee; HU, Hao; SHRESTHA, Kumar; DOUST, Andrew N. Pearl millet response to drought: A review. *Frontiers in Plant Science*, v. 14, 2023. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2023.1059574> DOI: <https://doi10.3389/fpls.2023.1059574> Singh, M., Nara, U. Genetic insights in pearl millet breeding in the genomic era: challenges and prospects. *Plant Biotechnol Rep* 17, 15–37 (2023). <https://doi.org/10.1007/s11816-022-00767-9>