



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR E GENÉTICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR**

**CARACTERIZAÇÃO *IN SITU* E DIVERSIDADE GENÉTICA DE
ALGODOEIROS MOCÓS (*Gossypium hirsutum* raça *marie galante* L. Hutch) DA
REGIÃO NORDESTE DO BRASIL**

Ivandilson Pessoa Pinto de Menezes

Natal, 2009



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR E GENÉTICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR**

**CARACTERIZAÇÃO *IN SITU* E DIVERSIDADE GENÉTICA DE
ALGODOEIROS MOCÓS (*Gossypium hirsutum* raça *marie galante*) DA REGIÃO
NORDESTE DO BRASIL**

Ivandilson Pessoa Pinto de Menezes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular do Centro de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Genética e Biologia Molecular.

ORIENTADOR: Dra. Lúcia Vieira Hoffmann (Pesquisadora da EMBRAPA
ALGODÃO, e-mail: hoff@cnpa.embrapa.br)

Natal, 2009

Dedico primeiramente a Deus e entre os mortais, aos meus
inspiradores oficiais, a meus familiares e em
especial aos meus pais e esposa.

AGRADECIMENTOS

A Prof. Dra. Lúcia Vieira Hoffmann pela orientação e, sobretudo, pelos conhecimentos transmitidos, confiança, hospitalidade, paciência, ensinamentos..., enfim, o meu muito obrigado;

Ao Prof. Dr. Paulo Augusto Vianna Barroso pela co-orientação e por ter me ensinado a analisar os dados gerados na pesquisa, além de ter me acolhido em sua casa, pela atenção, incentivo, confiança...

A Msc. Valeska Silva Lucena e Milena Ferreira Alves por ter colaborado no desenvolvimento dos dados laboratoriais;

Ao Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular, pela oportunidade deste aperfeiçoamento e realização do Curso de Mestrado;

Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado;

A Embrapa Algodão pela oportunidade concedida de estágio no laboratório de Biologia Molecular e assim toda a infraestrutura para realização deste projeto;

Aos funcionários da Embrapa Algodão (Gildo Pereira de Araújo, José Henrique de Assunção, Francisco das Chagas Vidal Neto, Nelson Dias Suassuna, Paulo Augusto Vianna Barroso e Francisco Pereira de Andrade) e da Embrapa meio Norte (José Lopes Ribeiro) por terem coletado os materiais analisados.

Aos técnicos do laboratório de biologia molecular (Fábia Suelly, Francisco Alves, Zé Carlos, Zé Menezes, Eliane) pelos ensinamentos dos procedimentos práticos de laboratório e por proporcionarem um ambiente adequado ao aprendizado;

Finalmente, a todos que contribuíram de uma forma ou de outra para a realização deste trabalho, que por descuido não foram citados – aos quais antecipo minhas desculpas...

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1:** Representação esquemática de um loco microssatélite..... 11
- Figura 2.** Cladograma e evolução de espécies do gênero *Gossypium*..... 14

CAPÍTULO I

- Figura 1.** Número total de plantas coletadas por estado..... 34
- Figura 2.** Porcentagem de algodoeiros pertencentes a *G. hirsutum* raça *marie galante* (Azul) e *G. barbadense* (vermelho) coletados por estado..... 35
- Figura 3.** Distribuição de *G. hirsutum* raça *marie galante*..... 36
- Figura 4.** Porcentagem de plantas de algodoeiro mocó quanto ao uso 40
- Figura 5.** Número de plantas de algodoeiro mocó com mancha nas pétalas..... 41
- Figura 6.** Porcentagem de algodoeiros mocós, segundo presença de línter..... 42
- Figura 7.** Porcentagem de algodoeiro mocó segundo a altura em metros..... 44
- Figura 8.** Porcentagem de algodoeiro mocó segundo a idade em anos..... 45

CAPÍTULO II

- Figura 1.** Distribuição de *G. hirsutum* raça *marie galante*..... 58
- Figura 2.** Agrupamento segundo Neighbor Joining dos conjuntos de algodoeiros mocós coletados em cada estado..... 63
- Figura 3.** Agrupamento segundo Neighbor Joining de genótipos de algodoeiro mocó avaliados..... 65

LISTA DE TABELAS

CAPITULO I

Tabela 1. Tipo de população e de propriedade em que plantas de algodoeiro mocó foram coletadas por estado..... 39

CAPITULO II

Tabela 1. *Primers* selecionados para caracterização genética..... 55

Tabela 2. Indicadores de variabilidade genética..... 59

Tabela 3. Tamanho e frequência de alelos exclusivos amplificados em algodoeiros mocós por estado..... 61

Tabela 4. Proporção da diversidade genética..... 62

Tabela 5. Matriz de distância genética entre grupos de algodoeiro mocó por estado..... 63

SUMÁRIO

	Pág.
Lista de Figuras	v
Lista de Tabelas	vi
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1 Estrutura genética de populações	03
2.2. Mensurações da variação e estrutura genética	04
2.2.1 A porcentagem de locos polimórficos (P)	04
2.2.2 Número de Alelos (A)	05
2.2.3 Índice de fixação de Wright e diversidade de Nei.....	05
2.3 Marcadores genéticos aplicados à análise genética de planta	09
2.4 Marcadores de microssatélites	11
2.5 Algodão	13
2.5.1 Classificação botânica e origem	13
2.5.2 <i>Gossypium barbadense</i>	16
2.5.3 <i>Gossypium hirsutum</i>	17
2.5.4 Relatos sobre a espécie <i>G. hirsutum</i> raça <i>marie galante</i>	18
2.5.4.1 Origem	18
2.5.4.2 Fases do melhoramento do algodoeiro mocó	20
2.5.4.3 Crise do algodoeiro mocó como atividade produtiva e a coleta de materiais para coleções de germoplasma	23
3. OBJETIVOS	26
3.1 Geral	26
3.2 Específicos	26
4. CAPÍTULO I - CARACTERIZAÇÃO <i>IN SITU</i> DE ALGODOEIROS MOCÓS (<i>Gossypium hirsutum</i> raça <i>marie galante</i>) DA REGIÃO NORDESTE DO BRASIL	27
RESUMO.....	28
ABSTRACT.....	29
4.1 Introdução	30
4.2 Material e métodos	32
4.2.1 Caracterização das expedições	32

4.3 Resultados e discussão	35
4.3.1 Algodoeiros coletados nas expedições <i>in situ</i>	35
4.3.2 Caracterização <i>in situ</i> <i>G. hirsutum</i> raça <i>marie galante</i>	35
4.3.2.1 Dados geográficos	36
4.3.2.2 Dados da população	39
4.3.2.3 Dados culturais	44
4.3.2.4 Dados fenológicos	44
4.4 Conclusões	49
5. CAPÍTULO II - GENÉTICA POPULACIONAL DE ALGODOEIRO <i>Gossypium hirsutum</i> raça <i>marie galante</i> DO NORDESTE DO BRASIL.....	50
RESUMO	51
ABSTRACT.....	52
5.1 Introdução	53
5.2 Material e métodos	55
5.2.1 Material de estudo.....	55
5.2.2 Extração de DNA	55
5.2.3 Obtenção de marcadores SSR	56
5.2.4 Análise dos dados	57
5.4 Resultados e discussão	59
5.5 Conclusões.....	68
6. DISCUSSÃO GERAL.....	69
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
8. ANEXO.....	82

1. INTRODUÇÃO

No Brasil existem três espécies de algodão todas alotetraplóides originárias das Américas. Duas apresentam importância econômica, *Gossypium hirsutum* e *G. barbadense*, responsáveis pela quase totalidade da fibra comercial produzida no mundo (Ulloa et al., 2006). A terceira, *G. mustelinum* é a única nativa do Brasil e endêmica da região semi-árida do Nordeste do país, onde populações selvagens são encontradas.

A cotonicultura vem se intensificando a cada ano devido a sua importância socioeconômica mundial, tendo o Brasil como um dos maiores produtores de algodão. Avanços tecnológicos têm permitido aos produtores brasileiros alcançar as mais elevadas produtividades em plantio de sequeiros do mundo (Conab, 2007). Melhorias nas condições de adubação, práticas culturais corretas, controle de pragas e doenças, uso de sementes de qualidade, mecanização e boa gestão agrícola têm contribuído para essa eficiência. Contudo parte desse mérito se deve ao uso de cultivares adaptadas ao cerrado obtidas através do melhoramento genético.

Como relatado por Boulanger (1971), boa parte da história do nordeste está associada à cultura algodoeira. O autor faz menção à ocorrência das variedades *barbadense* (quebradinho) e *brasiliense* (rim-de-boi) da espécie *G. barbadense* e de variedades das raças *latifolium*, chamada de algodão herbáceo, e *marie galante*, conhecida no Brasil como algodão mocó. Além da variabilidade dentro de cada espécie, diversos autores relatam a ocorrência de híbridos interespecíficos naturais (Freire et al., 2002). Desta forma, existe uma grande diversidade genética do algodoeiro nos estados nordestinos o que justifica um estudo abrangente de diversidade.

A cultura do algodoeiro mocó foi importante no semi-árido nordestino, devido a sua adaptabilidade às condições ambientais, particularmente a elevada tolerância a seca. As lavouras chegaram a ocupar cerca de dois milhões de hectares na década de 70 (Freire, 2000). A partir de 1983, a área plantada foi drasticamente reduzida em virtude da introdução do inseto praga-bicudo e problemas econômicos, tecnológicos, e sociais. Atualmente, os algodoeiros mocós remanescentes mantidos *in situ* estão ameaçados. A manutenção da maioria das plantas depende dos hábitos

culturais da população local. Segundo Barroso et al. (2005a) estes algodoeiros representam importantes reservatórios genéticos para uso de curto e longo prazo, logo sua preservação deve ser incentivada.

Para que a conservação dos recursos genéticos dos algodoeiros mocós seja feita de forma adequada é importante que sejam identificados o modo com que as plantas estão sendo mantidas *in situ* e as funções a elas atribuídas. Também é importante escolher materiais para serem mantidos *ex situ*. Conforme Zucchi et al. (2005) o conhecimento do padrão da distribuição da diversidade genética de populações tem sido importante em ações de conservação. Logo o entendimento da variabilidade existente nos estados nordestinos é necessário para o delineamento de estratégias adequadas de conservação *in situ* e *ex situ*. Tais informações podem ser obtidas empregando marcadores moleculares, dentre eles se destacam os marcadores codominantes (Baloux & Lugon-Moulin, 2002; Lemes et al., 2003). Marcadores SSR desenvolvidos especificamente para algodão (Liu et al., 2000; Nguyen et al., 2004) tem sido utilizados em estudos de caracterização de germoplasma de algodão herbáceo (Menezes et al., 2008), em populações naturais de *G. mustelinum* (Batista, 2005) e de germoplasma de *G. barbadense* coletados no Amapá e Pará (Almeida, 2007).

Objetivou-se com este trabalho determinar o modo de manutenção *in situ* de algodoeiros *Gossypium hirsutum* raça *marie galante* presentes no Nordeste do Brasil e caracterizar a variabilidade e o padrão da estrutura genética das populações coletadas através de marcadores de microssatélites, com vistas à adequada preservação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Estrutura genética de populações

A genética de populações é uma das faces da genética de importância na biologia aplicada a agricultura. Além de viabilizar as bases necessárias à compreensão do processo evolutivo, fornece informações importantes para o melhoramento genético e para a conservação das populações de plantas.

A estrutura genética pode ser definida como a distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações (Nei, 1978). De acordo com Balloux & Lugon-Moulin (2002), o estudo da diversidade genética visa realizar a quantificação espacial e temporal da distribuição heterogênea dos alelos e genótipos. Tal heterogeneidade é resultante de forças evolutivas, efetivas tanto nas espécies como nas populações. É o estudo destas distribuições, e inferências sobre as forças evolutivas presentes, que consistem na caracterização da estrutura genética.

A variação genética é resultante do efeito combinado de mutação, migração, seleção e deriva genética, as quais definem a composição genética das populações (Nei, 1978). Segundo Hamrick (1982), a distribuição da variabilidade genética em populações naturais é influenciada pelo modo de reprodução, sistema de acasalamento, tamanho da população, distribuição geográfica e fluxo gênico. Dentre estes fatores, a migração e a mutação aumentam a diversidade genética, enquanto que a seleção e a deriva genética diminuem a diversidade genética dentro das populações (Hedrick, 2005).

O estudo da variação genética em populações de uma espécie envolve basicamente duas questões: (I) quantificar os níveis de variabilidade dentro das populações e (II) caracterizar o nível de estruturação genética entre populações (Hamrick, 1982).

A caracterização da diversidade genética é um processo que analisa a variação entre indivíduos ou grupos de indivíduos ou população por métodos específicos ou uma combinação de métodos. Conforme Cole (2003), os parâmetros genéticos mais utilizados em estudos para quantificar a variabilidade em populações de plantas são as proporções de locos polimórficos dentro de populações (Pp), número de alelos por loco (A), a diversidade total (H_T), e heterozigosidade esperada (H_e) e observada

(H_0). Contudo, a escala na qual a estrutura genética é considerada, como área geográfica, amostragem e número de populações consideradas, é relevante para o valor das estimativas obtidas; logo as inferências a partir dos valores precisam ser relativizadas, inclusive considerando fatores que afetam a estrutura genética em determinada escala espacial (Balloux & Lugon-Moulin, 2002).

A estatística F de Wright descreve os índices de fixação dos alelos, baseados em mensurações de correlações de identidade gênicas por descendência. A distribuição dessa variação dentro e entre populações pode ser estimada pelos índices de endogamia (f , F_{ST} e F_T) (Wright, 1965) ou estatística G de Nei (Nei, 1987).

Há, além da estatística F de Wright, outras estimativas propostas para quantificar a diferenciação genética de populações e em subdivisões de populações, que descreve os índices de fixação dos alelos, baseados em mensurações de análise da diversidade genética dentro e entre populações com base na heterozigosidade esperada e observada existente na população (Nei, 1973; Nei, 1977; Nei & Chesser, 1983); e através da análise da variância das frequências gênicas (Cockerham, 1969 e Weir, 1996).

2.2 Mensurações da variação e estrutura genética

Várias medidas da variação e estrutura genética são comumente usadas, mas sua aplicação tem variado entre os estudos. Em seguida foram descritas as mensurações utilizadas nesta análise.

2.2.1 A porcentagem de locos polimórficos (Pp)

A proporção de locos polimórficos reflete a quantidade de polimorfismo de uma população ou amostra. É uma medida baseada na razão do número de locos polimórficos pelo número total de locos analisados da população ou amostra. Representa uma mensuração quantitativa que permite, além de verificar o quanto existe de variação genética em uma população, compará-la entre populações.

Para se determinar quando um loco é polimórfico ou não, Torggler et al. (1995) relatam que se têm baseado nas frequências alélicas de acordo com sua maior ou menor ocorrência na população. Cole (2003) cita três critérios que são mais

freqüentemente utilizados para definir o polimorfismo de um loco: (a) considera-se polimórfico todos os locos que apresentarem mais de um alelo por loco; (b) se a freqüência do alelo mais comum for igual ou menor que 99%; e/ou (c) se a freqüência do alelo mais comum não deve ser maior que 95%.

2.2.2 Número de Alelos por loco (A)

Número de alelos por loco (A) consiste do número total de alelos encontrado na população, dividido pelo número total de locos amostrado. Contudo, esse índice de variação pode ser mensurado para os locos polimórficos (A_p) amostrados na população, sendo definido pela razão do número total de alelos dos locos polimórficos sobre o número de locos polimórficos. Conforme Mohammadi & Prasanna (2003) esta medida enfatiza um componente de diversidade, a qual se pode referir como riqueza alélica.

A porcentagem de locos que são polimórficos e o número de alelos por loco além de serem particularmente sensíveis ao tamanho da população (Nei, 1987), segundo Mohammadi & Prasanna (2003) são influenciados também pela estratégia de amostragem, pelo número de indivíduos amostrados por população e pela diversidade dos indivíduos amostrados. Desta maneira, este estudo diversidade genética de algodoeiro mocó do nordeste gera informações que subsidiam estratégias para melhorar a eficiência de amostragem, que busque maximizar a diversidade genética amostrada, como também minimizar os cruzamentos endogâmicos refletidos pelas estimativas da estatística F e/ou G , descritas a seguir.

2.2.3. Índice de fixação de Wright e diversidade de Nei

O índice de fixação de Wright, chamado também coeficiente de endogamia, é usado para estimar os efeitos da endogamia em termos da redução na heterozigosidade (Mohammadi & Prasanna, 2003). Depois de desenvolvido o índice de fixação, Wright (1951) estendeu esse procedimento para quantificar a extensão em que ocorre fluxo gênico entre populações ou, por outro lado, o efeito de isolamento de fluxo de alelos entre as populações, ou sua diferenciação genética. O isolamento entre populações pode ser caracterizado por um excesso de

homozigotos, em relação ao que se esperaria caso houvesse livre fluxo de genes entre as populações (Hedrick, 2005) segundo níveis hierárquicos de endogamia, sendo subdivididas em três níveis distintos de complexidade: organismos individuais (I); subpopulação (S) e população total (T). Valores que permitem fazer inferências sobre a ocorrência e distribuição da quantidade da variabilidade genética de populações.

A estatística F proposta por Wright mostra que a variação na frequência gênica entre subpopulações pode ser analisada pelos índices de fixação, introduzidos pela seguinte fórmula:

$$1 - F_{IT} = (1 - F_{IS}) (1 - F_{ST})$$

Em que,

F_{IT} = índice de fixação ou coeficiente de endogamia para o conjunto das populações (devido ao sistema reprodutivo e subdivisão);

F_{IS} = índice de fixação ou coeficiente de endogamia intrapopulacional (devido ao sistema reprodutivo);

F_{ST} = índice de fixação ou coeficiente de endogamia entre populações (devido à subdivisão populacional).

F_{ST} é uma medida que reflete a diferenciação genética entre subpopulações, podendo variar de zero a 1, isto é, sempre positivo. O valor de F_{ST} é igual a zero para as subpopulações idênticas e é 1 quando elas são fixadas para alelos diferentes. F_{IT} e F_{IS} são medidas de desvio das proporções de Hardy-Weinberg em população total e dentro das subpopulações, respectivamente. Quando os valores são positivos indicam uma deficiência de heterozigotos, enquanto os valores são negativos indicam excesso de heterozigotos.

O coeficiente de endogamia estende a idéia de homozigosidade por descendência, como a probabilidade de que dois alelos escolhidos ao acaso de duas populações sejam idênticos por descendência. O conhecimento do índice de endogamia permite realizar inferências sobre a estrutura espacial da população, podendo então melhorar a representatividade da diversidade gênica de amostra populacional. Em algodão, a estatística F de Wright, com o uso de marcadores SSR permitiu quantificar a distribuição da variabilidade genética de três populações *G. mustelinum* isoladas geograficamente, as quais demonstraram elevados F_{IS} e grandes diferenças genéticas existentes entre as populações, com estimativas de

$F_{ST} \geq 0,5$ (Batista, 2006). Por fim, tais medidas apresentam fortes implicações no delineamento de estratégias de manejo e conservação da diversidade genética das populações.

Porém, a estatística F proposta por Wright é aplicável para algumas populações. O método de Wright assume que a população possui dois alelos e também que o número de subpopulações é infinitamente grande. Como na prática trabalham-se com números pequenos de subpopulações, existem problemas quanto a clareza da relação da teoria de Wright com os dados reais (Nei, 1973).

Nei (1973, 1977, 1978) e Nei e Chesser (1983) reformularam os índices de fixação de Wright. Eles propuseram que o grau de diferenciação gênica de populações fosse estimado com base na heterozigosidade, mensurada a partir da frequência de alelos e genótipos existentes dentro e entre populações. O índice de Nei (1973) utiliza as frequências gênicas na análise da diversidade gênica em populações e permite a comparação dos níveis de heterozigosidade entre e dentro de uma população subdividida. A heterozigosidade esperada (H_E) ou diversidade total descrita por Nei (1973) é a medida de diversidade mais utilizada em genética de populações de plantas (Cole, 2003). É definida por Reddley (2006) como a probabilidade de dois alelos em um loco, retirado ao acaso da população, sejam diferentes. A heterozigosidade média (h), também conhecido como índice de polimorfismo (PIC), é mensurada por loco, e definida $h = 1 - \sum p_i^2$, em que p_i é a frequência do alelo i por loco estudado (Nei, 1973). A heterozigosidade populacional (H_T) de uma população é a média de todos os locos examinados.

Conforme Alfenas et al. (1996) a heterozigosidade é uma medida que não tem necessariamente relação com a frequência de heterozigotos, apesar de representar uma medida de variabilidade importante (Reddley, 2006), sendo definida inteiramente em função das frequências alélicas. Portanto, aplica-se à população com reprodução assexuada e sexuada, com alogamia ou autogamia. Embora em populações que estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg, a heterozigosidade, como descrito por Reddley (2006), é igual à proporção de heterozigotos.

A distribuição da variabilidade genética contida em populações subdivididas pode ser obtida pelos componentes que constituem a diversidade total (H_T) (Nei, 1973). A diversidade total contempla a população como um todo, em que é mensurada pela fórmula $H_T = H_S + D_{ST}$. O índice H_S consiste no componente de

diversidade dentro de populações, que representa a média ponderada dos valores de H calculado para subpopulações; D_{ST} é o componente de diversidade entre populações, quantificando quão diferente as populações são entre si. Segundo mencionado por Nei (1973) a razão entre D_{ST} e H_T expressa a proporção da variabilidade contida entre as subpopulações, $G_{ST} = D_{ST} / H_T$, e mais tarde redefinido como análogo multialélico de F_{ST} (Nei, 1977).

Assim, a redefinição da estatística F por Nei (1977) é uma extensão da proposta de Wright em função da heterozigosidade observada e esperada mensurada a partir da frequência gênica e genotípica presentes na geração, estendendo sua aplicação para locos multialélicos, e de um número finito de subpopulações. É pertinente, portanto, o uso de marcadores co-dominantes a estudos que buscam compreender a dinâmica da estrutura genética de populações, através das medidas;

$$F_S = 1 - H_O / H_S;$$

$$F_T = 1 - H_O / H_T ;$$

$$F_{ST} = 1 - H_S / H_T .$$

Apesar da similaridade das definições dos índices de Wright e da reformulação da estatística F por Nei, existe uma diferença importante na concepção prática dos modelos propostos. A teoria de Wright é definida para uma população panmítica. O modelo fixo proposto por Nei (1973, 1977, 1978) foi expresso para populações finitas e amostradas, que podem apresentar-se reduzidas, por exemplo, por expansão agrícola e redução de florestas (que não satisfazem o modelo aleatório, devido às mesmas terem sofrido alterações pela ação humana).

O modelo de Nei (1977) foi formulado com base nas frequências alélicas e genotípicas presente na população, logo, pode apresentar oscilações de geração a geração, causadas devido ao efeito da deriva genética. Nei e Chesser (1983) desenvolveram metodologia que procura corrigir desvios das estimativas H_O , H_S e H_T causados por tamanho pequeno da população ou amostragem pequena.

2.3 Marcadores genéticos aplicados à análise genética de planta

Os marcadores genéticos foram originalmente utilizados no mapeamento genético da *Drosophila melanogaster* por Alfred H. Sturtevant (1913). Logo depois, Karl Sax em estudos de ligação genética entre locos quantitativos (cor e tamanho da semente) em feijão comum (Andersen & Lubberstedt, 2003). Percebe-se que os primeiros marcadores utilizados foram os caracteres morfológicos. Embora a maioria possa ser facilmente monitorada, Ferreira & Grattapaglia (1998) descrevem limitações nas análises genéticas de populações baseadas em caracteres morfológicos: de modo geral possuem caráter dominante, ocorrem em número limitado, a detecção é geralmente tardia e podem apresentar plasticidade fenotípica e ação pleiotropica. Apesar das limitações, os marcadores morfológicos ainda são bastante usados em algodoeiro para obter informação sobre a base genética de cultivares (Bowman et al., 1996), a diversidade genética em germoplasma de cultivares ou silvestre (Esbroeck & Bowman, 1998; Carvalho et al., 2003) e na determinação de relações taxonômicas (Freire et al., 1998).

O rápido desenvolvimento de novas técnicas moleculares tem permitido estabelecer com inédita resolução a dinâmica entre populações, conduzindo a um melhor entendimento da estrutura populacional. Ferreira & Grattapaglia (1998) definem marcadores moleculares como sendo todo e qualquer fenótipo molecular oriundo de um gene expresso, como no caso de isoenzimas, ou segmento específico de DNA. Portanto, excetuando-se isoenzimas, que podem ser considerados marcadores bioquímicos, marcadores moleculares de DNA podem ser definidos como uma pequena região do DNA que possa revelar polimorfismo em genomas.

Os primeiros marcadores moleculares foram os isoenzimáticos, amplamente usados até a década de 80 na condução de trabalhos sobre a estrutura genética de populações. Eles foram gradualmente substituídos por marcadores baseados no DNA, embora ainda sejam usados em alguns estudos com populações naturais (Petit et al., 1997; Telles, et al., 2003). Uma das razões para sua substituição foi a existência de pouco polimorfismo em algumas espécies e a cobertura relativamente limitada do genoma, limitações similares às dos marcadores morfológicos (Andersen & Lubberstedt, 2003).

O desenvolvimento de marcadores de DNA proporcionou um grande impulso aos programas de conservação recursos genéticos, facilitando e ampliando o conhecimento sobre a quantidade e a distribuição da variação genética presente em populações (Gutiérrez et al., 2002). A primeira técnica de visualização de fragmentos de DNA foi descrita por Southern (1975), derivando a técnica de RFLP, *Restriction Fragment Length Polymorphism* (Botstein et al., 1980).

O surgimento da técnica de PCR, *Polymerase Chain Reaction* (Mullis & Faloona, 1987), aliado com o poder de informação gerada por marcadores moleculares permitiu que fragmentos de DNA amplificados via PCR fossem diretamente observados e descritos com um grau de precisão que até então não se podia (Zucchi, 2002). A partir de então, outras técnicas utilizando o princípio da PCR impulsionaram os estudos da biologia molecular em plantas e animais, tais como RAPD, *Random Amplified Polymorphic DNA* (Williams et al., 1990), AFLP, *Amplified Fragment Length Polymorphism* (Vos et al., 1995) e SSR, *Simple Sequence Repeats* (Weber & May, 1989), também denominado de microssatélites.

Segundo Petit et al. (1998), os marcadores moleculares têm incrementado a conservação dos recursos genéticos por fornecerem informações precisas que permitem o monitoramento da diversidade de algumas espécies. Dado que nem todas as populações de uma espécie são equivalentes quanto à capacidade de responder adaptativamente a alterações ambientais. A análise genética pode ser usada na identificação de populações prioritárias para conservação *in situ* ou *ex situ* (Orlove & Brush, 1996). Com isso, dados genéticos podem assegurar uma melhor utilização dos recursos disponíveis pela maximização do potencial de resposta de uma coleção ou conjunto de população conservada (Petit et al., 1998). A maioria das populações mostra algum nível de estruturação genética, a qual pode ser devido a uma variedade de agentes não mutuamente exclusivos (Balloux & Lugon-Moulin, 2002). Segundo Duarte et al. (1999) estudos da diversidade entre e dentro de espécies de interesse agrícola tem sido uma das mais concretas contribuições de marcadores moleculares para organização de germoplasma, genética de planta e melhoramento.

Os marcadores moleculares têm sido amplamente empregados em algodoeiro. Entre as aplicações, destaca-se a obtenção de estimativas da diversidade genética (Bertini et al., 2006); caracterização de acessos de germoplasma (Lacape et al.,

2007), identificação e localização de QTLs (Zhang et al., 2005), obtenção de associações com genes de interesse (Bezawada et al., 2003), construção e saturação de mapas genéticos (Liu et al., 2000; Nguyen et al., 2004) e identificação de populações para conservação (Batista, 2006).

2.4 Marcadores de microssatélites

Estudos demonstram que os genomas eucariotos são densamente povoados por diferentes classes de seqüências repetidas (Zane et al., 2002). O DNA repetitivo é composto por DNA satélite (DNA centromérico altamente repetitivo), VNTRs- Número variável de repetição em tandem constituído pelas seqüências de DNA microssatélites e minissatélite (DNA moderadamente repetitivo) e os elementos transponíveis (DNA moderadamente repetitivos, móvel e de seqüências dispersas) (Griffiths et al., 2002). Umas são mais complexas e outras mais simples, que mais tarde foram denominadas também de “microssatélites” (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Microssatélite ou *Simple Sequence Repeat* (SSR) são seqüências de DNA curtas e repetitivas constituídas de um motivo de 1 a 6 bases que são repetidas em tandem (Zane et al., 2002). São flanqueadas por seqüências conservadas dentro da espécie e entre grupos taxonômicos monofiléticos (que compartilham um ancestral comum recente) (Figura 1). Os marcadores SSRs são muito freqüentes e distribuídos ao acaso, permitindo a mais completa cobertura de qualquer genoma eucarioto (Selkoe & Toonen, 2006).

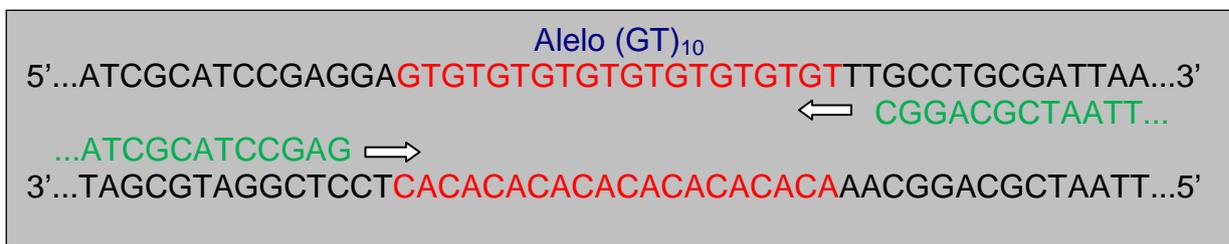


Figura 1. Representação esquemática de um loco microssatélite. Em vermelho: região repetitiva; preto: região com seqüência conservada, usada no anelamento do primer (verde).

Cada “ilha” microssatélite, independente da unidade repetida, constitui um loco genético altamente variável, multialélico, de grande conteúdo informativo (Lacape et

al., 2007) e cada segmento amplificado de tamanho diferente representa um alelo diferente do mesmo loco. Para a maioria dos locos microssatélites, o marcador é do tipo co-dominante. Isto significa que os diferentes alelos de um loco podem ser detectados e discriminados, permitindo a identificação de todas as classes genóticas, incluindo os indivíduos heterozigotos (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

A detecção de seqüências SSR obtidas via PCR pode ser feita em gel de eletroforese utilizando-se poliacrilamida ou agarose especial de alta resolução. Isto decorre da necessidade de um gel adequado para a separação de segmentos que diferem por poucos pares de bases. A visualização das bandas no gel pode ser feita diretamente, por coloração com brometo de etídio ou nitrato de prata (Creste et al., 2001) ou através de autoradiografia, ao se utilizar primers marcados na reação de PCR (Liu & Wendel, 2001). Cada loco de microssatélite é acessado ao se utilizar par de primers construído especificamente para sua amplificação. Contudo, mais de um loco pode ser revelado, caso os alelos de cada loco tenham tamanhos suficientemente diferentes e migram para zonas separadas no gel.

A diversidade genética em algodão tem sido caracterizada por métodos moleculares e apesar de todo sucesso, o nível de polimorfismo detectado é baixo (Lacape et al., 2007). Inicialmente foram usados os marcadores enzimáticos (Wendel et al., 1992) e uma variedade de marcadores de DNA, com destaque para as técnicas RAPD (Khan, 2000; Rana & Bhat, 2005; Menezes et al., 2008) e RFLP (Brubaker & Wendel, 1994). Porém, devido a dificuldades e limitações inerentes às técnicas, elas foram substituídas por marcadores AFLP (Pillay & Myers, 1999; Iqbal et al., 2001; Hussein et al., 2007) e SSR. Os marcadores de SSR têm sido utilizados na confecção de mapas genéticos (Reddy et al., 2001); Nguyen et al., 2004); na análise da correlação da distancia genética e caracteres agronômicos (Gutiérrez et al., 2002); em estudos de diversidade (Lacape et al., 2007) e na caracterização genética de cultivares (Bertini et al., 2006). Seu amplo uso em algodoeiros deve-se à alta freqüência e ampla distribuição em genoma de plantas, além de serem codominantes e multialélicos, fornecendo mais informações sobre polimorfismo (Reddy et al., 2001).

2.5. Algodão

2.5.1 Classificação Botânica e origem

Algodoeiro é uma dicotiledônea pertencente ao gênero *Gossypium*, da família Malvaceae. Todas as espécies desse gênero possuem flores completas, com algumas possuindo sementes abundantemente pilosas das quais se prepara fio para tecidos. As sementes são fontes de óleo comestível e de torta para gado (Joly, 1991).

O gênero *Gossypium* é composto por 49 espécies, sendo 44 diplóides ($2n=26$) e cinco alotetraplóides ($2n=52$) (Fryxell et al., 1992). Apenas 4 são cultivadas, duas são diplóides (*Gossypium arboreum* L. e *Gossypium herbaceum* L.) e duas alotetraplóides (*Gossypium hirsutum* L. e *Gossypium barbadense* L.). As demais espécies são silvestres (Freire, 2000). São amplamente distribuídas e presentes em regiões áridas e semi-áridas dos trópicos e sub-trópicos de quatro continentes: Ásia, África, Oceania e América (Wendel e Cronn, 2003). Apresenta uma extraordinária diversidade morfológica com uma ordem diversa de características reprodutivas e vegetativas.

A maioria das espécies apresenta um sistema misto de reprodução, ou seja, possui sistema reprodutivo intermediário entre autogamia e alogamia. De acordo com Freire et al., (2002), essa taxa de fecundação cruzada dependerá da presença e número de polinizadores, podendo variar muito de acordo com o manejo da cultura, fatores bióticos e abióticos.

Dados citogenéticos e genômicos permitiram estabelecer o gênero em 8 grupos genômicos (A-G, K) de espécies diplóides e um grupo alotetraplóide (AD) (Brubaker et al, 1999) (Figura 2). A domesticação do algodoeiro ocorreu em pelo menos quatro locais distintos, originando duas espécies diplóides cultivadas e duas tetraplóides (Wendel & Cronn, 2003). A presença de fibras na epiderme das sementes como citado por Brubaker et al. (1999) foram reconhecidas por humanos como uma característica proveitosa, direcionando eventos de domesticação independentes.

De acordo Liu & Wendel (2002) os algodoeiros alotetraplóides ($2n=52$), dentre os quais duas espécies são domesticadas, são todos nativos das Américas, e descendem da hibridização de dois táxons diplóides (genomas A e D). Como as espécies com genoma A são originárias do Velho Mundo, a hipótese mais provável é que uma dispersão transoceânica tenha introduzido espécimes deste genoma na América (Wendel & Cronn, 2003; Adams & Wendel, 2004). Durante o período em que plantas do genoma A e D foram simpátricas, ocorreu uma hibridização seguida de poliploidização, a cerca de 1-2 milhões de anos. Deste evento único houve a radiação de cinco espécies alotetraplóides conhecidas: *G. mustelinum*, *G. darwinii*, *G. barbadense*, *G. hirsutum* e *G. tomentosum* (Figura 2). Segundo Wendel & Cronn (2003) a alopoliploidização no gênero *Gossypium* permitiu maiores adaptações morfológicas, fisiológicas e ecológicas devido ao aumento do nível de variação genética. Desta maneira, a duplicação genômica deve ter proporcionado novas oportunidades para o melhoramento agrônômico através da seleção artificial.

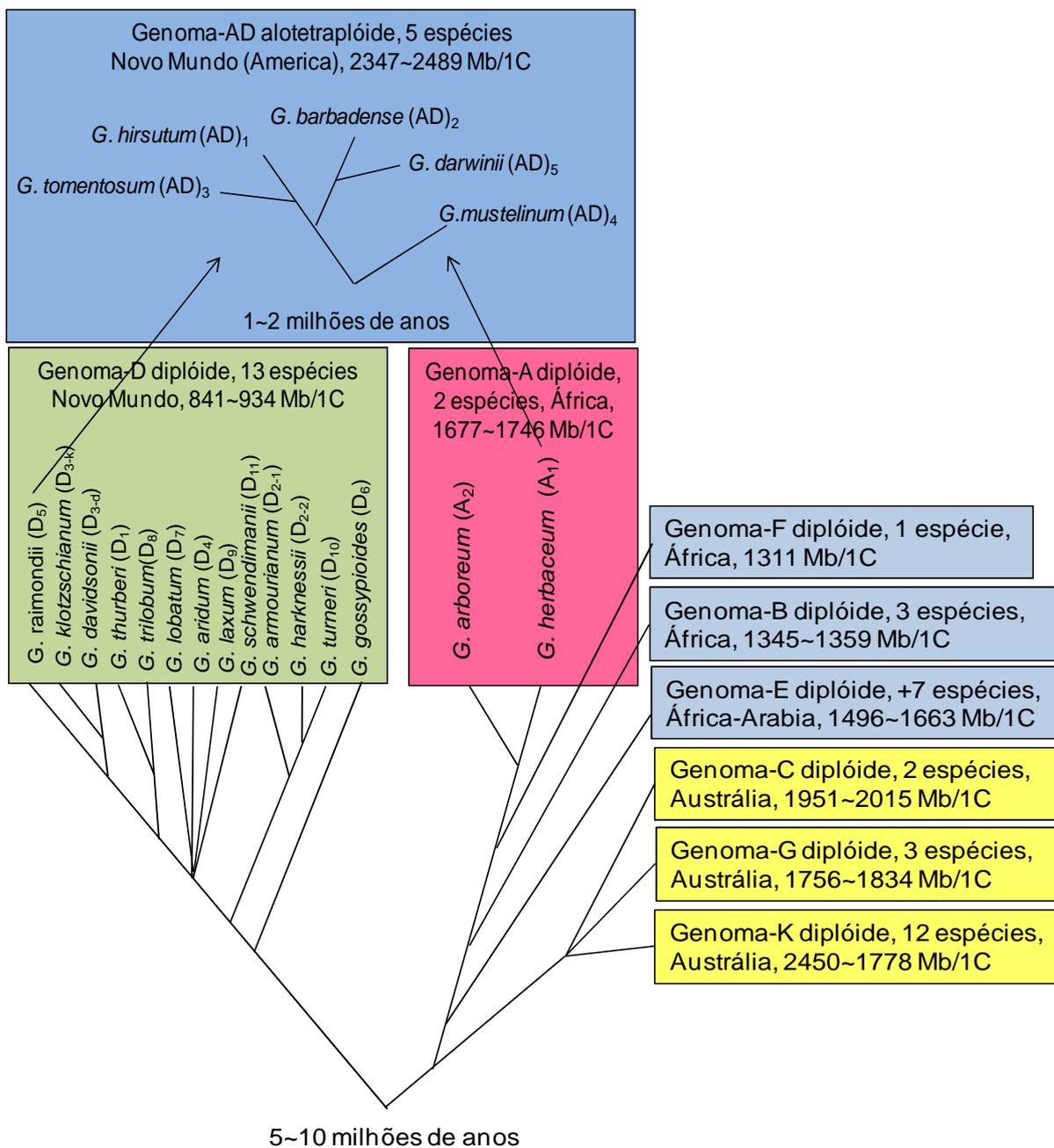


Figura 2. Cladograma e evolução de espécies do gênero *Gossypium*. Traduzido e adaptado a partir da fonte Zang et al. (2008).

O Brasil apresenta um complexo de diversidade do gênero, com ocorrência de três espécies, todas alotetraplóides e sexualmente compatíveis: *G. hirsutum*, *G. barbadense* e *G. mustelinum* (Borém et al., 2003). Todas estão presentes na região Nordeste. Destas, apenas para *G. mustelinum* não se conhecem populações nos estados do Maranhão, Piauí e Paraíba.

2.5.2 *Gossypium barbadense*

G. barbadense é uma espécie arbórea e perene, cujo centro de origem e de domesticação é o Norte do Peru, Sul do Equador, a oeste dos Andes (Stephens, 1973; Westengen et al., 2005). No Brasil, é distribuída em praticamente todos os estados, conforme disponível no site www.embrapa.cnpa.br/albrana, principalmente na forma de fundo de quintal.

Há duas variedades botânicas no Brasil, como citadas por Stephens (1973) a *G. barbadense* var. *barbadense*, conhecida como quebradinho ou Maranhão e *G. barbadense* var. *brasiliense*, conhecido como algodoeiro rim-de-boi da bacia Amazonas. A variedade *brasiliense* possui sementes sem línter, fortemente coladas umas as outras, dando-lhe uma aparência de um rim. A variedade *barbadense* possui sementes sem línter, descoladas. Elas diferem, basicamente, na forma da semente e esta diferenciação morfológica tem sido usada para justificar o reconhecimento de dois grupos taxonômicos. O traço rim-de-boi das sementes é uma herança monogênica codificada por um alelo recessivo. A diferenciação entre essas variedades não é muito clara, em consequência de ambas não serem distintas geneticamente e ocorrerem simpatricamente no norte da América do Sul e nas Antilhas (Stephens, 1973). É sugerido que a var. *brasiliense* é melhor classificada como uma forma semi domesticada da espécie *G. barbadense* (Brubaker et al., 1999).

O algodoeiro *G. barbadense* foi introduzido no Brasil por povos pré-colombianos, em que a fibra desta espécie era empregada na produção de artesanatos têxteis por algumas etnias indígenas antes da chegada dos portugueses. O seu uso como planta têxtil se difundiu entre os colonizadores (Moreira et al., 1989), e desde então passou a ser cultivada nas terras do litoral nordestino. Segundo Boulanger (1971) a ascensão do algodoeiro arbóreo *G. barbadense* ocorreu com o estabelecimento das capitânicas hereditárias dos estados da Bahia, Pernambuco e Maranhão, difundindo-se para todos os estados, atendendo a demanda do consumo interno. Conforme citado por Borém et al. (2003) o *G. barbadense* cultivado no Maranhão, neste período, tornou-se uma dos principais produtos de exportação do Brasil. Entretanto, entrou em decadência com a disseminação das raças de *G. hirsutum* (Barroso et al., 2005a) e com a

concorrência com a produção dos EUA (Boulanger, 1971). As repetidas introduções de algodão herbáceo, no século XIX, causou uma eliminação progressiva do cultivo dos algodoeiros “Rim-de-boi” e “Quebradinho” nos estados nordestinos.

Atualmente, a espécie *G. barbadense* não é encontrada em ambientes naturais e é mantida, basicamente, como planta de fundo de quintal. A conservação *in situ* está diretamente ligada à manutenção das tradições de uso como planta medicinal e a melhor garantia de conservação da diversidade é *ex situ* (Almeida, 2007; Cazé et al., 2008a; 2008b)

2.5.3 *Gossypium hirsutum*

No Brasil a espécie *G. hirsutum* está representada por duas raças cultivadas como classificado por Hutchinson (1951): a raça *latifolium*, também conhecida como algodão herbáceo ou, *upland cotton*, é amplamente cultivada e encontrada em quase todos os estados brasileiros. Esta raça contribui com 99,9% da totalidade da produção de fibra comercial do Brasil (IBGE, 2009) e cerca de 90% do mundo (Zhang et al., 2008). A outra raça é a *marie galante*, a única entre as sete raças de *G. hirsutum* conhecidas que apresenta um porte arbóreo (Stephens, 1973). No Brasil é encontrada principalmente no semi-árido nordestino, na forma de variedade local, fundo de quintal, cultivares melhoradas, populações ferais e beira de estrada (Freire, 2000; Johnston et al., 2006).

A espécie *G. hirsutum* foi domesticada na América Central (Adams & Wendel, 2004). Segundo Stephens (1973), *G. hirsutum* raça *latifolium* foi domesticada no México e na Guatemala e *G. hirsutum* raça *marie galante* nas ilhas das Antilhas. A primeira é a mais difundida e dela derivou-se a maioria das variedades de algodão cultivadas no mundo (Percival & Kohel, 1990 citado por Freire, 2000). A variabilidade existente dentro dos tipos cultivados de algodoeiro herbáceo não é alta (Bowman et al., 1996; Rahman et al., 2002).

Desta forma, estudos direcionados a acessar a variabilidade de *G. hirsutum* raça *marie galante* e *G. mustelinum*, espécies sexualmente compatíveis são muito importantes. Seus objetivos devem incluir inventariar e valorar seu potencial como recurso genético, a exemplo de identificar genes de importância agrônômica. Só

assim poderão ser aproveitados como fontes potenciais de variabilidade para os programas de melhoramento do algodoeiro.

2.5.4 Relatos sobre a espécie *Gossypium hirsutum* raça *marie galante*

2.5.4.1 Origem

O uso popular do nome mocó atribuído a algodoeiros arbóreos cultivados no Nordeste é bastante difundido e aceito. Conforme descrito por Moreira et al. (1989) as razões da denominação do nome mocó não são claras. Alguns autores atribuem esse nome a sementes oriundas da Suíça e introduzidas no Rio Grande do Norte chamadas de “makô”, na segunda metade do século XIX. Porém, há quem discorde dessa origem, devido à extrema semelhança das sementes desses algodoeiros com o excremento de um mamífero roedor comum na região, Mocó (*Kerodon rupestris*).

Hutchinson (1951) descreveu a espécie *G. hirsutum* compreendendo sete raças (*morrilli*, *richmondi*, *palmeri*, *punctatum*, *latifolium*, *yacatanense* e *marie galante*), e incluindo o algodoeiro mocó como *marie galante*. Segundo Stephens (1973) a última raça destaca-se entre as demais devido a apresentar uma distribuição geográfica ampla e ser simpátrica com outros algodoeiros em praticamente toda sua área de ocorrência.

As concepções de origem para o algodão mocó cultivado no Nordeste do Brasil incluem a dúvida quanto sua classificação como *G. hirsutum* raça *marie galante* (Freire e Moreira, 1991). Em sua genealogia pode existir uma importante participação dos outros genótipos encontrados no Nordeste. Certamente, o algodoeiro mocó do Seridó do Nordeste do Brasil representa um grupo geograficamente isolado em relação a outros da raça *marie galante*, que tem distribuição contínua na América Central e norte da América do Sul (Stephens, 1973), e apresenta um subconjunto gênico distinto da raça *marie galante* (Johnston et al., 2006).

Mesmo a origem da raça *marie galante* é controversa. Stephens (1973) explica que é possível que o *G. hirsutum*, domesticado no México, tenha sido trazido por migrações indígenas ao longo da América Central, mas propõe que se considere a possibilidade da domesticação do *marie galante* na Colômbia, o que representaria

o quinto local de domesticação do algodoeiro. Ele baseia sua hipótese na i) aparente ausência de uma zona de transição (indivíduos geneticamente intermediários) entre os *G. hirsutum* encontrados no México e ii) na relativa uniformidade morfológica dos *marie galante* encontrados na costa do Pacífico da América Central quando comparado à diversidade morfológica encontrada na Colômbia.

Pesquisadores da Embrapa algodão têm produzido informações para melhor entender a possível origem do mocó. Os algodoeiros mocós catalogados do Nordeste brasileiro são formados por populações distintas quanto as suas características morfológicas, ecológicas e tecnológicas de fibra (Freire e Moreira, 1991). Freire et al. (1990) com base em uma coleta de germoplasma, identificaram tipos que puderam ser classificados em cinco subgrupos, “mocó Francisco Raimundo (M. F. R), mocó do Vale do Seridó (M. V. S), mocozinho (M. Z.), mocó de fibra creme (M. F.C) e mocó melhorado (M.M)”. A análise de diversidade baseada em caracteres morfológicos revelou a presença de dois grupos (grupo 1, M. F. R, M. V. S e M. M; grupo 2, M. F. C e M. Z). Ambos os grupos foram bem divergentes de algodoeiros exóticos da raça *marie galante*. Freire e Moreira (1991) também encontraram evidências de que os tipos de mocó, possivelmente constituem um grupo individualizado tanto da raça *marie galante* quanto de *G. barbadense*. Neste estudo, eles verificaram que os algodoeiros mocós se agrupavam de modo intermediário entre genótipos da raça *marie galante* provenientes de outros países e representavam um tipo intermediário com o *G. barbadense*. Os resultados encontrados retomam a questão da origem autóctone do ‘mocó’, isto é, de que ele teria evoluído a partir de formas selvagens, ainda hoje encontradas no Nordeste brasileiro. Moreira et al. (1995) forneceram evidências que o mocó não pode ter tido uma única origem. Aventou-se que o mocó não deve ser resultante da seleção exclusiva em genótipos de *marie galante*, devendo haver participação genealógica de outros algodoeiros.

Freire et al. (1998) realizaram estudo de diversidade e concluíram que *G. mustelinum* não participou na formação do mocó. As evidências morfológicas encontradas por Freire et al. (1998) estão em desacordo com que foi proposto por Moreira et al. (1989), que afirmaram que *G. mustelinum* provavelmente era um dos ancestrais do algodoeiros mocós. Estudos em algodão com marcadores moleculares demonstraram grande deficiência na transmissão de regiões do cromossomo de

parente doador em cruzamentos de *G. hirsutum* e *G. barbadense* (Adams & Wendel, 2004). Se o mesmo for aplicável a cruzamentos entre *marie galante* e *G. mustelinum*, é possível que descendentes de eventuais hibridações tenham perdido progressivamente o genoma da espécie nativa, porém, mantendo algumas características.

As relações filogenéticas são particularmente obscuras para os tipos mocozinho e mocó fibra creme. Nos diversos trabalhos que foram realizados com estes materiais, eles não apresentaram agrupamento bem definido em relação aos demais algodoeiros mocós estudados (Freire & Moreira, 1991; Moreira et al., 1995; Freire et al., 1998). Essa instabilidade de posição do mocozinho e fibra-creme, que ora se agruparam juntos (Freire & Moreira, 1991), ora fibra-creme com verdão e mocozinho isolado (Moreira et al., 1995), ora mocó tendência *mustelinum* agrupado com o mocozinho e fibra-creme isolado (Freire et al., 1998), pode ser resultado de eventos de hibridização diferentes, ou seja heterofilético. Conforme discutido por Moreira et al. (1995), o algodoeiro mocó não representa um tronco único. Sua origem conta com a participação de outros tipos de algodoeiros e a hibridização deve ser o processo que mais contribuiu para a origem do mocó. Processo similar foi verificado em *Oryza*, cujos tipos cultivados derivam de diferentes eventos de hibridação e domesticação (Londo & Schaal, 2007).

A provável origem de formação do algodoeiro mocó do semi-árido nordestino do Brasil ainda não foi bem estabelecida, como se pode verificar nos trabalhos acima citado. Não se pode descartar que eventuais introgressões tenham ocorrido após a introdução por europeus ou africanos de algodoeiros *marie galante*, visto que a hibridização é um processo comum em culturas geneticamente complexas (Ellstrand et al., 1999). Estudos genômicos utilizando marcadores de DNA especificamente delineados para este fim podem auxiliar a melhor entender o processo de origem e evolução do algodoeiro mocó do Nordeste brasileiro.

2.5.4.2 Fases do melhoramento do algodoeiro mocó

O cultivo do algodoeiro mocó no Nordeste iniciou-se por volta 1860 na região do Seridó potiguar, a partir de sementes desenvolvidas pelos agricultores. Os tipos mais antigos desse algodoeiro mostram sinais evidentes de melhoramento. Isto

levou Moreira et al. (1982) a exaltar a participação do homem como agente transformador na origem de um novo tipo de algodoeiro, o mocó.

O melhoramento genético do algodoeiro mocó no Nordeste do Brasil sob o ponto de vista estrito é uma atividade praticada há mais de 88 anos. Os modos e objetivos variaram com a época. As fases do melhoramento do algodoeiro mocó foram discriminadas por Moreira et al. (1982) em anterior à criação da SUDENE, em 1963, coordenada pela SUDENE e coordenada pela Embrapa Algodão.

A primeira fase inicia-se em 1921 com a visita do inglês Arno Pearce, que representava a secretaria Geral da *International Federation of Master Cotton Spinners and Manufacturers Association*, ao Seridó do Rio Grande do Norte. Ele constatou a necessidade de um trabalho sistemático de seleção, buscando, então, a restituição da excelência da qualidade de fibra. Outro momento importante aconteceu logo em seguida no Rio de Janeiro, em 1922, quando foi realizada a Conferência Internacional Algodoeira. Durante este evento buscou-se delinear estratégias que permitissem a ascensão do Brasil à categoria de futuro exportador de algodão, incluindo o centro de pesquisa e fomento do aperfeiçoamento dos métodos de melhoramento do algodão.

Apesar dessa iniciativa de um plano de agenda do governo, o pioneirismo ficou por conta de empresas privadas. Implantou-se um núcleo de melhoria do algodoeiro para o Nordeste brasileiro na Fazenda São Miguel, em Angicos no estado do Rio Grande do Norte. Quatro anos após, em 1924, o governo criou as estações experimentais de Cruzeta, na região do Seridó Rio Norte Grandense, de Serra Talhada em Pernambuco, de Pendência, próxima a Soledade, Paraíba. Nesta primeira fase, o melhoramento do algodoeiro mocó plantado no Nordeste brasileiro foi institucionalizado e as ações eram fragmentadas e independentes. Apesar disso, as ações apresentaram orientações similares, como enfatizadas por Moreira et al., (1982), preconizando a purificação da planta quanto aos aspectos morfológicos e tecnológicos de fibra. Também era objetivo importante manter as características de resistência do algodoeiro mocó às adversidades do semi-árido nordestino. O único programa a usar outro tipo de algodoeiro no melhoramento foi a Algodoeira São Miguel, que também usava variedades Pima (*G. barbadense*) provenientes do Arizona para sintetizar suas populações. Somente em 1950 esta empresa passou a trabalhar apenas com algodoeiros mocós.

A segunda fase do melhoramento do algodoeiro teve início em 1963, sob coordenação da Superintendência do Desenvolvimento do Nordeste (SUDENE). Ela se diferencia principalmente por apresentar um programa unificado de melhoramento, orientado pela SUDENE. Esse diferencial permitiu o trabalho em equipe, viabilizando a ampliação de conhecimentos básicos sobre a planta. Sob a coordenação da SUDENE, o melhoramento genético do algodoeiro contou com a colaboração técnica do “*Institut de Recherche Coton et Textile Exotique*” e da “*Food and Agricultural Organization (FAO)*”. Além desse suporte científico a SUDENE realizou importantes convênios com Centro de Ciências Agrárias da UFCE (CCA), Instituto de Pesquisa Agronômica (IPA-PE), a Secretária de Agricultura do Estado da Paraíba e com a Algodoeira São Miguel. Os objetivos do melhoramento genético foram totalmente reformulados e as sementes eram distribuídas diretamente aos agricultores. Isto resultou em aumento da produção (Moreira et al. 1982).

Ainda na segunda fase, os algodoeiros mocós foram separados em classes de acordo com o número de dias até o florescimento em: precoces (103-142 dias); médios ou intermediários (133-172 dias) e tardios (163-232 dias) (Moreira et al., 1982). Esta separação permitiu disponibilizar materiais de ciclo diferentes para o produtor, proporcionando uma maior flexibilidade para se adaptar a irregularidade do período chuvoso do semi-árido brasileiro. Também foi verificado que a baixa produtividade estaria relacionada ao conjunto de genes da população tardia, deste modo, o programa de melhoramento passou a apresentar orientação de seleção para precocidade.

A fundação do Centro Nacional de Pesquisa do Algodão (CNPQ), em 1975, no município de Campina Grande (PB) é o marco inicial da terceira fase e consolida a institucionalização do melhoramento genético do algodoeiro mocó. A mudança institucional não alterou as atividades que vinham sendo exercidas sob coordenação da SUDENE. Manteve-se a linha de seleção para precocidade iniciada pela UFCE. Contudo, os trabalhos que eram conduzidos na estação experimental de Veludo, passaram a ser concentradas no próprio habitat natural do algodoeiro mocó no campo experimental de Patos (PB). A transferência dos trabalhos para Patos permitiu selecionar genótipos com padrões mais precoces, cuja combinação de genes apresentasse um alto grau de resistência aos fatores de estresse da região (Moreira et al., 1982). O CNPA, também, buscou multiplicar e distribuir sementes de

algodoeiro a ponto de quase anular a dependência dos produtores das sementes misturadas adquiridas nas unidades de beneficiamento.

O algodoeiro mocó do semi árido nordestino apresenta outra forma distinta de ocorrência, chamada de tipo verdão (Johnston et al., 2006), e foi bastante plantado no nordeste no início do século XX (Pearse, 1921).

O algodoeiro verdão também foi conhecido como “rasga letra” já que sua produtividade permitiu ganhos suficientes para pagar dívidas. Este tipo de algodão apresentava maior potencial genético de produção do que o algodão mocó, alcançando níveis de produtividades próximas aos tipos herbáceos (Alves e Quirino, 1972; Silva et al., 1982). O algodoeiro verdão foi amplamente plantado no Piauí, Ceará, Paraíba e no Rio Grande do Norte no final da década de 70 (Agroanalysis, 1981). Todavia, seu padrão tecnológico com fibras na faixa entre 28-32 mm e com desuniformidade suficiente capaz de ameaçar seu emprego (Moreira, 1973). Logo, este algodão era utilizado basicamente para fabricação de tecidos grosseiros, sacaria e redes (Moreira, 1976).

As características botânicas que permitem classificar o tipo verdão, uma vez que apresentam heterogeneidade de caracteres botânicos, que parecem ser característicos de herbáceos, mocós ou barbadense (Alves e Quirino, 1972). Assim, a origem do algodoeiro verdão nunca foi bem determinada, tendo se colocado hipótese de que seria resultante do cruzamento de algodoeiros herbáceos com barbadense (Pinheiro, 1974), ou *marie galante* (Freire et al., 2002).

2.5.4.3 Crise do algodoeiro mocó como atividade produtiva e a coleta de materiais para coleções de germoplasma

O algodão mocó foi amplamente explorado no Nordeste brasileiro. Na década de 1970, a área cultivada nos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Bahia, Sergipe e Alagoas representava a maior com algodoeiro no país. Na década seguinte o cultivo do algodoeiro mocó entrou definitivamente em declínio devido à introdução do inseto-praga bicudo do algodoeiro (*Anthonomus grandis*). Porém, a decadência do algodoeiro mocó era anterior ao estabelecimento da praga. Segundo Moreira et al. (1989), uma redução da área plantada superior a de 50% ocorreu entre 1973 e 1983, ano do

aparecimento do bicudo. Segundo os mesmos autores, a pobreza tecnológica, as relações de produção arcaicas, a evolução tecnológica da indústria têxtil e a aspereza do clima foram as causas da redução da área e produtividade pré-bicudo. Estes também foram os principais empecilhos para que as ações de convivência com a praga fossem possíveis de serem implementadas.

A pá de cal foi jogada pela interferência do governo no mercado interno, quando eliminou a alíquota de importação e causou elevada queda nos preços (Freire et al., 1999). Esta abertura levou à falência do sistema de exploração do mocó e causou elevados impactos no cultivo de algodoeiros herbáceos. O restabelecimento da cotonicultura, que somente ocorreu após o início do cultivo do algodoeiro anual no cerrado, usando padrão tecnológico muito mais elevado (Barros et al., 2002; Borém et al., 2003). Porém o algodoeiro mocó continuava em processo de extinção que segundo o IBGE, na safra 2006/07 restavam apenas 847 hectares de algodoeiro mocó (IBGE, 2009).

As coletas de algodoeiros mocós para compor coleções de germoplasma e melhoramento tiveram início na primeira metade do século XX. As expedições para sua coleta no Brasil iniciaram-se na década de 1920, sob a orientação da Algodoeira São Miguel e IPEANE-Brasil. No período de 1962-1965 ocorreu sob coordenação da SUDENE (Freire, 2000). Elas foram seguidas por diversas expedições realizadas pelo IAC-Brasil, INFAOL, IPA-PE e, após a fundação da Embrapa Algodão, em 1975, maiores esforços foram concentrados na preservação do germoplasma do algodoeiro mocó. As ações realizadas pelo Instituto Agrônomo de Campinas resultaram na coleta de 644 plantas, incluindo algodoeiros mocós, *G. barbadense* e *G. mustelinum* (Neves et al., 1965). Até 1990, a Embrapa Algodão havia empreendido onze expedições, nas quais foram coletados 743 acessos, sendo 696 de algodoeiro mocó (Freire et al., 1990). As coletas foram realizadas já se prevendo que os algodoeiros mocós poderiam desaparecer pela incapacidade do modelo de produção implementar a prática de convívio com o bicudo enquanto plantas cultivadas. As expedições foram novamente intensificadas a partir de 2003, desta vez impulsionada pela eminente introdução de algodoeiros geneticamente modificados no país. Outra medida adotada para preservar as populações mais significativas sob o ponto de vista de recursos genéticos foi delinear zonas de

exclusão de algodoeiros geneticamente modificados para evitar eventual contato genético com algodoeiros transgênicos (Barroso et. al., 2005a).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

- Caracterizar e gerar informações sobre populações de *Gossypium* coletadas no século XXI, nos estados do Piauí, Maranhão, Ceará, Rio Grande do Norte e Paraíba que permitam sua adequada preservação.

3.2 Específicos

- Determinar o modo com que as plantas são mantidas *in situ* nos estados do Piauí, Maranhão, Ceará, Rio Grande do Norte e Paraíba;
- Estimar a diversidade genética em algodoeiros presentes nos estados estudados;
- Desenvolver estratégia de preservação dos algodoeiros nativos do Brasil.

Capítulo I

Caracterização *in situ* de algodoeiros mocós (*Gossypium hirsutum* raça *marie galante*) da região Nordeste do Brasil

RESUMO

O Brasil é um dos importantes centros de diversidade de algodoeiros poliplóides pertencente ao gênero *Gossypium*, com 3 espécies conhecidas: *G. hirsutum*, *G. barbadense* e *G. mustelinum*. O Nordeste é a única região com ocorrência das três espécies, sendo a última endêmica. Os algodoeiros desta região podem ser fontes importantes de variabilidade para o melhoramento genético. Acredita-se que grande parte da diversidade local esteja sendo perdida, devido a problemas econômicos, políticos, culturais e agrícolas. Na tentativa de mitigar tal perda e delinear estratégias de conservação é necessário conhecer como as espécies se encontram no local em que ocorrem. Objetivou-se caracterizar e determinar o modo com que as plantas são mantidas *in situ* nos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte e Paraíba no início do século XXI. A caracterização *in situ* de *G. hirsutum* e *G. barbadense* foi realizada por meio de entrevista estruturada com o proprietário e pela análise do ambiente. Os dados foram tomados durante expedições empreendidas entre os anos de 2004 a 2005. Foram coletadas 22 plantas no estado da Paraíba, 44 no estado do Rio Grande do Norte, 146 no estado do Ceará, 40 no estado do Maranhão e 91 plantas no estado do Piauí. Todas as plantas coletadas nos estados da Paraíba e Rio Grande do Norte eram do tipo mocó. O algodoeiro mocó também predominou nos demais estados, representando 92%, 62% e 78% das plantas coletadas no Ceará, Piauí e Maranhão, respectivamente. Os demais algodoeiros coletados pertencem a espécie *G. barbadense*. Os algodoeiros mocós foram encontrados *in situ* na forma de planta de fundo de quintal, beira de estrada, feral, lavoura, variedade local. Em grande parte eram do tipo fundo de quintal (45,2%), sendo maioria no Piauí e Maranhão. No Ceará predominou o tipo lavoura, no Rio Grande do Norte tipo feral e na Paraíba variedades locais. A manutenção das plantas do tipo mocó está ligada, principalmente, ao uso doméstico fitoterápico (20,9%) e confecção de pavios para candeeiro (29,7%). Poucos moradores na Paraíba, Rio Grande do Norte, Piauí e nenhum no Maranhão apresentaram o hábito de realizar a colheita, armazenamento e beneficiamento das sementes, entretanto no Ceará 40,5% dos proprietários afirmaram realizar a colheita e comercializar a fibra. Verificou-se que a manutenção da espécie é dependente dos frágeis hábitos culturais da população local, portanto a manutenção *in situ* não é um meio adequado à conservação dos recursos genéticos. Os esforços devem ser direcionados para a continuidade das coletas, caracterização e manutenção *ex situ*.

Palavras-chave. Algodoeiro mocó, caracterização *in situ*, conservação, germoplasma

***In situ* characterization of moco cotton plants (*Gossypium hirsutum* race *marie galante*) of Brazil's Northeast region**

ABSTRACT

Brazil is one of the major centers of diversity for polyploid cotton plants; these plants belong to the genus *Gossypium*, which has three known species: *G. hirsutum*, *G. barbadense* and *G. mustelinum*. The Northeast is the only region where the three species occur, the last group being endemic. Northeast's cotton plants can be important sources of variability for genetic breeding. It is believed that great part of local diversity is being lost, due to economic, political, cultural and agricultural problems. In an attempt to mitigate this loss and delineate conservation strategies it is necessary to know how the species are found where they occur. The objective was to characterize and determine how plants are maintained *in situ* in the states of Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte and Paraíba at the beginning of the XXI century. The *in situ* characterization of *G. hirsutum* and *G. barbadense* was conducted through structured interviews with the cotton plants owners and through the analysis of the environment. The data were collected during expeditions undertaken between the years 2004 to 2005. Twenty-two plants were collected in the state of Paraíba, forty-four in the state of Rio Grande do Norte, one hundred and forty-six in the state of Ceará, forty in the state of Maranhão and ninety-one plants in the state of Piauí. All plants collected in the states of Paraíba and Rio Grande do Norte belonged to moco type. Moco cotton plants also predominated in the other states, representing 92%, 62% and 78% of plants collected in Ceará, Piauí and Maranhão, respectively. The other cotton plants collected belong to the species *G. barbadense*. The cotton plants were found *in situ* as dooryard plants, roads side, feral populations, cultivation or local varieties. Great part were dooryard plants (45.2%), being major in Piauí and Maranhão. Cultivation predominated in Ceará; in Rio Grande do Norte feral populations were the most frequent and, in Paraíba, local varieties. The maintenance of moco plants is related, mainly, to the phytotherapeutic domestic use (20.9%) and to confection of lamp wicks (29.7%). Few inhabitants in Paraíba, Rio Grande do Norte, Piauí and none in Maranhão used harvest the plants, storage the seeds or gin; however, in Ceará, 40.5% of owners affirmed that they harvested and commercialized the fiber. It was found that the maintenance of species is dependent of the fragile cultural habits of local inhabitants, therefore the maintenance *in situ* is not a suitable way to conservation of genetic resources. The efforts must be directed to the continuity of collections, maintenance and characterization *ex situ*.

Key words. Moco cotton, *In situ* characterization, conservation, germplasm

4.1 INTRODUÇÃO

De 49 espécies pertencentes ao gênero *Gossypium*, apenas 4 são cultivadas: *G. hirsutum*, *G. barbadense*, *G. arboreum* e *G. herbaceum*. As espécies mais importantes são a *G. hirsutum* e *G. barbadense*, sendo a primeira a mais amplamente cultivada, responsável pela quase totalidade da produção de fibra comercial do mundo (Freire, 2000; Ulloa et al., 2006; Zhang et al., 2008).

As espécies de algodoeiro do gênero *Gossypium* estão distribuídas na Ásia, África, Austrália e América (Freire, 2000). A espécie *G. hirsutum* tem centro de origem no México e *G. barbadense* no Peru e na Bolívia (Brubaker & Wendel, 1994). Conforme citado por Freire (2000), o Brasil é o centro de origem da espécie alotetraplóide *G. mustelinum*, com distribuição apenas no semi-árido nordestino. Também é o centro de diversidade secundária das espécies *G. barbadense*, que se distribui em praticamente todo o país, e de *G. hirsutum* raça *marie galante* que se estende do México ao Nordeste do Brasil. A região do Seridó do Rio Grande do Norte e da Paraíba é considerada o berço do algodoeiro mocó do Brasil (Barroso et al., 2005a).

O algodoeiro é uma das plantas mais antigas em cultivo no Brasil. *G. barbadense* era cultivada em nosso território pelos povos indígenas, antes mesmo da chegada dos portugueses. Iniciada a colonização, passou a ser explorada como planta têxtil. O cultivo de *G. barbadense*, entrou em decadência com a introdução e disseminação das duas raças de *G. hirsutum*. Segundo Barroso et al. (2005a), *G. hirsutum* raça *latifolium* Hutch foi introduzida a partir dos Estados Unidos e está presente quase exclusivamente na forma de cultivares. A outra raça, *G. hirsutum* raça *marie galante* (Watt) Hutch pode ter origem autóctone ou foi introduzida por holandeses ou africanos (Stephens, 1967). Esse algodoeiro foi amplamente cultivado no Nordeste, chegando ocupar cerca de 2,5 milhões de hectares na década de 70 (Freire, 2000). Na década de 1980, a área cultivada com algodoeiro mocó foi drasticamente reduzida em virtude de diversos problemas agravados com a dispersão do bicudo (Beltrão, 2003).

Desde 1920, como relatado por Freire (2000), pesquisadores brasileiros e estrangeiros têm efetuado coleta de germoplasma das espécies de algodoeiros do Brasil. Acredita-se que esteja ocorrendo um processo de perda de diversidade em

virtude do abandono do cultivo de *G. barbadense* e do algodoeiro mocó e pelo enfraquecimento de hábitos e tradições associados aos dois algodoeiros (Barroso et al., 2005b). Uma das ações básicas para mitigar tais perdas e delinear estratégias de conservação é o conhecimento sobre como as espécies se encontram no local em que ocorrem. Portanto, objetivou-se caracterizar e determinar o modo com que as plantas são mantidas *in situ* nos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte e Paraíba, no início do século XXI.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Caracterização das Expedições

Expedições foram realizadas por funcionários da Embrapa Algodão (Gildo Pereira de Araújo, José Henrique de Assunção, Francisco das Chagas Vidal Neto, Nelson Dias Suassuna, Paulo Augusto Vianna Barroso e Francisco Pereira de Andrade) e da Embrapa Meio Norte (José Lopes Ribeiro). A determinação do itinerário de coleta teve como base a literatura sobre a história de produção do algodoeiro no Nordeste. As expedições resultaram na coleta de 343 acessos nos estados da Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará, Piauí e Maranhão. As expedições nos estados do Piauí e Maranhão transcorreram nos períodos de 16 de novembro a 3 de dezembro e 7 a 10 de dezembro de 2004, respectivamente. No estado do Ceará as coletas ocorreram em dois momentos, o primeiro entre o dia 8 de novembro a 15 de dezembro de 2004 e o segundo nos dias 10 a 18 de outubro de 2005. Nos estados da Paraíba e Rio Grande do Norte foram conduzidas de 8 a 11 e 15 a 19 de agosto de 2005, respectivamente.

Durante as expedições buscou-se identificar e caracterizar os algodoeiros das espécies de *G. hirsutum* raça *marie galante*, *G. barbadense* e de outros tipos de algodoeiros mediante entrevistas estruturadas com os proprietários das plantas. Também foi realizada uma análise descritiva do ambiente em que as plantas estavam inseridas, conforme descrito no Quadro 1. Foram anotados dados geográficos (localização geográfica, tipo de propriedade); dados da população (número de plantas por ponto de coleta, espécie, tipo de população, origem declarada da semente, mancha na flor, forma e presença de línter nas sementes e cor da folha) e dados culturais (adubação, armazenamento das sementes e beneficiamento) e dados fenológicos (época de florescimento, altura e idade das plantas na coleta). Quanto à classificação do tipo de algodoeiro considerou-se a definição proposta por Johnston et al. (2006) em que: *i*) Selvagem é uma espécie de planta que só ocorre em ambientes naturais; *ii*) Feral representa progênie sexual ou vegetativa que é derivada de cultivar, e tem sobrevivido por um longo período; *iii*) Fundo de quintal é o algodoeiro de vizinhança; *iv*) Variedade local é o algodoeiro tradicional cultivado por fazendeiros, oriundos de sementes coletadas para plantios

subseqüentes; v) Voluntário ou espontâneo referem-se a plantas formadas a partir de cultivar que sobrevive ao próximo desenvolvimento sazonal, oriundo de sementes ou de propágulo vegetativo.

Quadro 1: Questionário preenchido para cada algodoeiro identificado nas expedições *in situ*.

Data: ____/____/____	Identificação do material: _____
1) Dados geográficos e do proprietário/mantenedor	
a) Município _____ b) Estado _____ c) Lat. _____ d) Long. _____ e) Altit. _____	
f) Proprietário _____ g) Propriedade ou endereço _____	
h) Propriedade: () Residência urbana () Residência rural () Pequena propriedade () Média/grande propriedade () Beira de estrada Outras _____	
i) Material coletado: () Sementes () Folhas/flores () Estacas () Outro _____	
2) Dados da população	
a) Espécie: () <i>G. barbadense</i> () <i>G. mustelinum</i> () Mocó () Herbáceo () Não identificado	
b) Tipo de Algodoeiro: () Selvagem () Feral () Fundo de quintal () Variedade local () Espontânea () Outro _____	
c) Usos: () Medicinal () Fiação () Lamparina () Ornamental () Algodão de farmácia () Nenhum () Outro _____	
d) Número de indivíduos: Adultos _____ Jovens _____	
e) Área aproximada _____	
f) Origem: () Familiar () Vizinho/amigo () Outro _____	
g) Riscos possíveis: () Pastejo de animais () Depredação do ambiente () Fluxo gênico () Mudança de hábitos culturais/abandono () Expansão de lavouras () Outros _____	
h) Mancha na flor: () Ausente () Forte () Média () Fraca () Sem flor	
i) Sementes: () Rim firme () Rim fraco () Semente separadas () Sem sementes	
j) Linter: () Presente e branco () Presente e colorido () Parcialmente presente () Ausente	
k) Fibra: () Branca () Marrom escuro () Marrom claro () Bege () Verde	
l) Cor da folha: () Verde () Colorida	
3) Dados culturais	
a) Plantio _____ b) Controle de doenças/pragas _____ c) Adubação _____	
d) Realiza colheita () Sim () Não	
e) Armazena sementes () Não () Sim, como: _____	
f) Beneficiamento () Não () Sim, Como: _____	
g) Doenças: () Ramulária () Ramulose () Mosaico comum () Doença azul () Bacteriose () Outra _____	
h) Pragas: () Bicudo () Lagartas que atacam maçãs () Lagartas desfolhadoras () Pulgões () Outros _____	
4) Dados do ambiente e fenológicos	
a) Vegetação predominante _____ b) Época de florescimento _____	
c) Época de frutificação _____	
d) Altura média () <0,5m () 0,5 a 1m () 1 a 2m () 2 a 3m () acima de 3m	
e) Idade média aproximada das plantas _____	
5) Observações (descrição origem, outras características, etc)	

O inventário das informações brutas obtidas com aplicação do questionário foi tabulado e disponibilizado no site www.cnpa.embrapa.br/albrana. Para o presente trabalho de caracterização os dados foram sistematizados e apresentados na forma de tabelas e gráficos.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Algodoeiros coletados nas expedições *in situ*

Nos cinco estados visitados da região Nordeste do Brasil foram coletadas 343 plantas pertencentes ao gênero *Gossypium*. A maior amostra foi coletada no estado do Ceará, representando 43,1%, seguido dos estados do Piauí (26,3%), Rio Grande do Norte (12,7%), Maranhão (11,6%), e Paraíba (6,4%) (Figura 1).

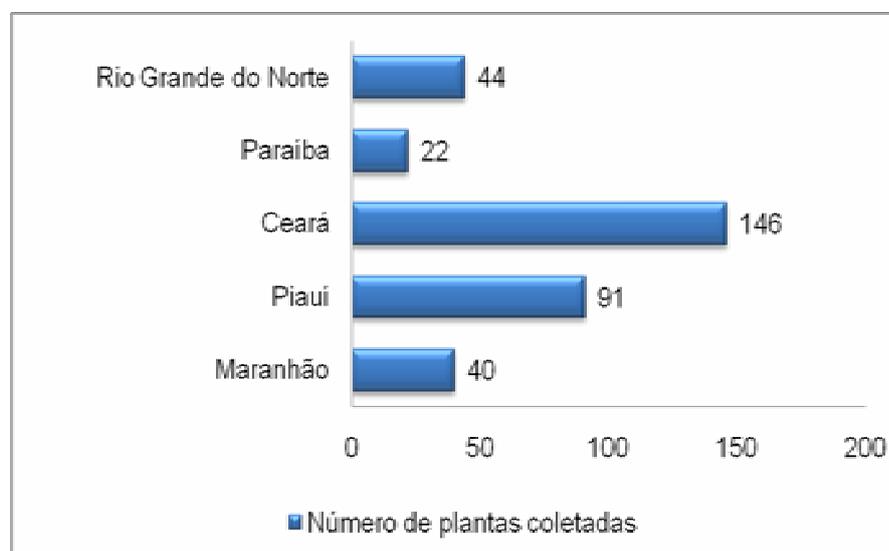


Figura 1. Número de plantas coletadas por estado.

Nas expedições de prospecção, algumas das plantas coletadas nos estados estudados pertenciam à espécie *G. barbadense*. Todavia, houve uma predominância do tipo mocó, representado por 84,7% das plantas. A elevada ocorrência de algodoeiro mocó é condizente com a história agrícola da região, por este algodoeiro ter sido cultivado em larga escala em passado recente (Moreira et al, 1989). Verificou-se que apenas nos estados do Maranhão, Piauí e Ceará ocorreram plantas da espécie *G. barbadense*, com proporções de 22,5%, 38,5% e 8,05%, respectivamente (Figura 2). Espécimes de *G. barbadense* também deveriam estar presentes na Paraíba e no Rio Grande do Norte (Freire et al., 1990). Porém, parecem ter sido extintas devido ser um tipo de algodoeiro adaptado a regiões altas e de clima úmido que depende da intervenção humana para sua sobrevivência no semi-árido nordestino. Logo, segundo Freire (2000) a presença de algodoeiros de *G.*

barbadense ainda podem persistir em regiões próximas ao litoral, que não foram visitadas durante a expedição.

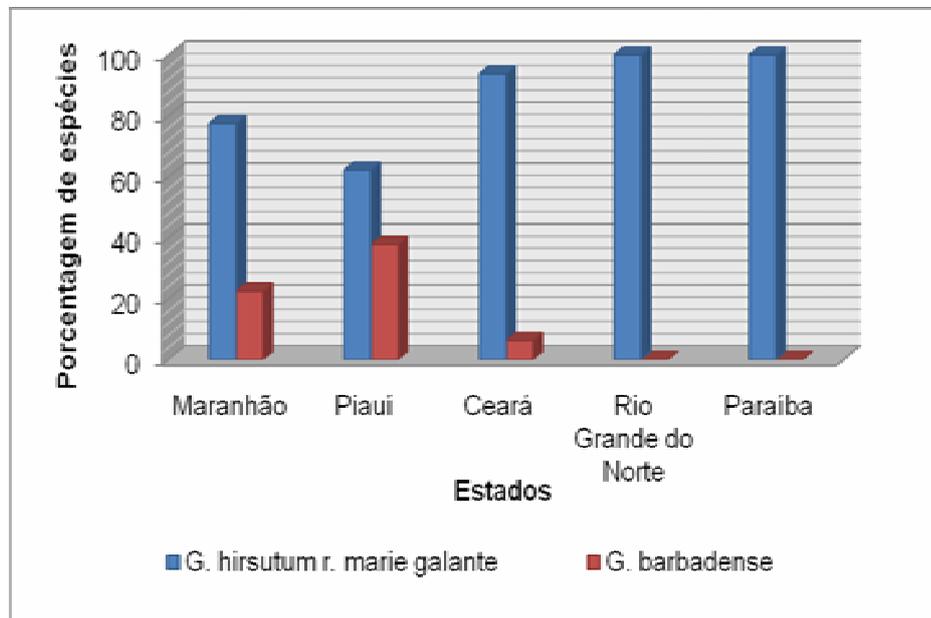


Figura 2. Porcentagem de algodoeiros pertencentes a *G. hirsutum* raça *marie galante* (Azul) e *G. barbadense* (vermelho) coletados por estado.

Todas as plantas da espécie *G. barbadense* foram encontradas em fundo de quintal. Segundo Stephens (1973) esta espécie está associada à influência da migração humana da costa Peruana, centro de domesticação da espécie, para região Norte da América do Sul, normalmente como plantas cultivadas em quintais, como subsistência. O cultivo comercial da espécie também ampliou sua distribuição pois, segundo Freire et al. (2002), foi amplamente cultivada em regiões altas dos estados do Maranhão, Piauí, Bahia e Minas Gerais. A sua manutenção, atualmente, está associada à tradição de uso de propriedades medicinais da planta, como também, para a confecção de pavio de lamparina. Aspectos que levaram Almeida (2007) para os estados do Amapá e Pará a concluir que a adequada conservação dessa espécie deva ocorrer com a criação de coleções de germoplasma *ex situ*.

4.3.2 Caracterização *in situ* de *Gossypium hirsutum* raça *marie galante*

4.3.2.1 Dados geográficos

A prospecção *in situ* e coleta de algodoeiros mocós presentes em cinco estados nordestinos foram realizadas em 6 expedições, no período de 2004 a 2005. Foram coletados folhas ou pétalas, sementes e estacas de 290 acessos de algodoeiros mocós. Verifica-se na figura 3 que os algodoeiros mocós remanescentes estão principalmente na faixa de clima semi árido (com 400 a 600mm de precipitação/ano) na vegetação de caatinga. As altitudes em que as plantas foram coletadas variaram de 46 a 118m no Maranhão, 60 a 533m no Piauí, 29 a 752m no Ceará, 147 a 600m no Rio Grande do Norte e de 234 a 613m na Paraíba.

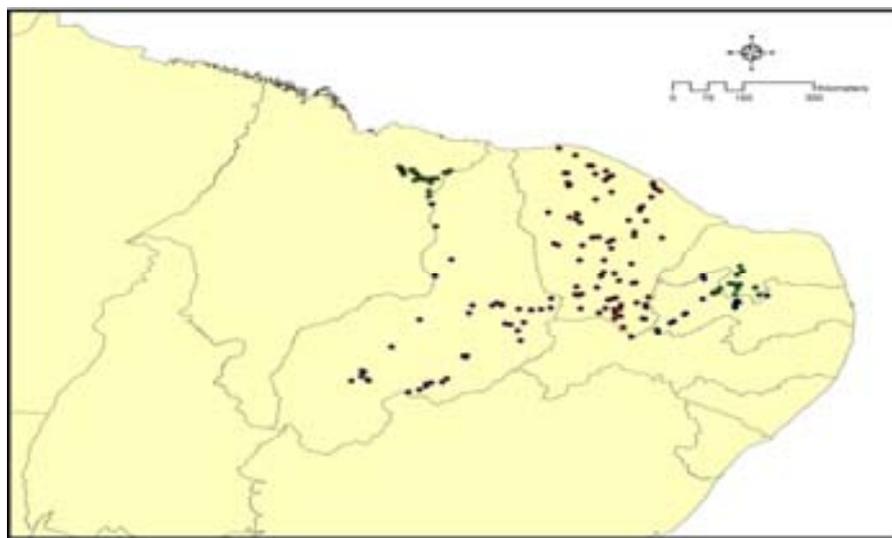


Figura 3. Distribuição de *G. hirsutum* raça marie galante. Algodoeiros coletados nos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte e Paraíba.

No estado do Maranhão, 31 plantas de algodoeiro mocó foram coletadas em 10 municípios. Em média, coletaram-se 3,1 plantas, variando 1 a 6 acessos por municípios. O município de Anapurus apresentou o maior número de planta coletadas, seis, seguido por Chapadinha e Mata Roma, com cinco; São Benedito do Rio Preto, com quatro; Urbano Santos, com três; Santa Quitéria do Maranhão, Brejo e Burití, com duas; e Milagres do Maranhão e Duque Bacelar, com uma planta.

No Piauí foram coletadas 56 plantas de algodoeiro mocó em 29 municípios. O número de acessos por município variou 1 a 6, com uma média 1,9 plantas. O maior número de plantas coletadas foi em Santa Luz com seis acessos, seguido de São João do Piauí com cinco, Palmeira do Piauí, São Braz do Piauí, Picos com quatro, São Raimundo Nonato, Jacobina do Piauí, Paquetá com três, Jurema, Vila Nova do Piauí, Itainópolis, com duas e os demais municípios Teresina, Cristina Castro, Santa

Luz, Currais, Eliseu Martins, Itaueira, Amarante, Caracol, São Raimundo Nonato, Colônia do Piauí, Oeiras, São Julião, Fronteiras, Pio IX, Santo Antônio de Lisboa, Massapê do Piauí, Patos do Piauí, Dom Expedito Lopes, Barro Duro e Miguel Alves com um acesso cada.

O estado do Ceará foi aquele em que o maior número de plantas de algodoeiro mocó foi coletado, 137. Essa fato deveu-se a dois fatores: à presença de maior número de agricultores que ainda cultivavam este algodoeiro e ao maior esforço de coleta realizado (55 municípios). O número médio de plantas coletadas por município foi 2,5, com valores máximos e mínimos de 1 e 7 plantas, respectivamente. O maior número de plantas (sete) foi amostrado nos municípios de Forquilha e Acopiara, seguido do Crato (seis), Catunda e Aiuaba com cinco, Santa Quitéria, Amontada, Capistrano, General Sampaio, Boa Viagem, Quixadá, Quixeramobim, Barbalha, com quatro, Ipaumirim, Pacatuba, Itapipoca, Itapagé, Tauá, Ibaretama, Choró Limão, Santa do Cariri, Barro, Aurora, Milagres, com três, Várzea Nova, Icó, Massapé, Uruburetama, Tururu, Independência, Pedra Branca, Mombaça, Farias Brito, Potengi, Campos Sales, Caririacú, com duas. Nos demais municípios Jucás, Iguatú, Morada Nova, Maracanaú, Caucaia, Guaiúba Ipueiras, Jijoca de Jericoacoa, Bela Cruz, Canindé, Buturité, Crateús, Bom Senhor Tabosa, Senador Pompeu, Solonópole, Mauriti, Jardim, Pena Forte apenas uma planta foi coletada em cada.

No estado da Paraíba foram coletadas 22 plantas distribuídas em 10 municípios: São Mamede, Quixabá, Piancó, Santa Inês, Ibiara, Diamante, Itaporanga, São Bentinho, Catolé do Rocha, Pedra Lavrada. O município de Quixabá foi recolhido o maior número de acessos (seis), seguido por São Mamede (quatro), Santa Inês e Catolé do Rocha (três), no restante dos municípios apenas uma planta foi coletada. No estado do Rio Grande do Norte 44 plantas foram amostradas em 6 municípios: Caicó, São José do Seridó, Serra Negra do Norte, Jucurutu, Acari, Parelhas. O município de Serra Negra do Norte foi aquele em que o número maior de plantas foi coletadas, não somente entre os municípios desse estado, mais dentre todos os municípios amostrados dos estados estudados neste trabalho. Em Acari foram coletadas três plantas, dez em Jucurutu e apenas uma planta nos demais municípios

4.3.2.2 Dados da população

Verificou-se que 132 das 290 plantas de algodoeiro mocó, ou seja, 45,5% dos acessos eram mantidas em fundo de quintal. Este tipo de algodoeiro foi encontrado em 98% dos acessos dos estados do Maranhão e Piauí e em 29,2% das coletas do Ceará. Ele foi menos freqüente apenas no estado do Rio Grande do Norte e da Paraíba, cujos tipos predominantes foram feral e variedade local, respectivamente. Mais da metade (57,5%) dos algodoeiros mocós de fundo de quintal ocorrem em residência rural (76). O restante (42,5%) ocorre em residência urbana (28), pequena propriedade (21) e média/grande propriedade (03). A segunda maior ocorrência é do tipo lavoura, com 73 plantas, encontradas exclusivamente no Ceará em pequenas e média/grande propriedades. Em todos os estados foram coletados algodoeiros classificados como espontâneos, à exceção do estado do Piauí. Eles representaram 11,7% do total e estavam em beira de estradas, provavelmente originários de sementes dispersas durante o transporte das fazendas até as unidades de beneficiamento (Tabela 1).

Tabela 1. Tipo de população e de propriedade em que plantas de algodoeiro mocó foram coletadas por estado.

Tipo de populações	Propriedades	Total de Plantas	N° de plantas por estado				
			MA	PI	CE	RN	PB
Fundo de Quintal	Peq. Propriedade	21	1	6	11	2	1
	Méd. Grand. Prop.	3	0	0	2	1	0
	R. Urbana	28	1	15	11	0	1
	R. Rural	76	28	30	16	0	2
	Não Identificada	4	0	4	0	0	0
	Subtotal	132	30	55	40	3	4
Espontânea	Peq. Propriedade	1	0	0	1	0	0
	Méd. Grand. Prop.	3	0	0	0	0	3
	R. Urbana	2	0	0	1	0	1
	R. Rural	4	0	0	4	0	0
	Beira de Estrada	23	0	0	18	3	2
	Não Identificada	1	1	0	0	0	0
Subtotal	34	1	0	24	3	6	
Feral	Peq. Propriedade	30	0	1	0	29	0
	Méd. Grand. Prop.	8	0	0	0	8	0
	Beira de Estrada	1	0	0	0	1	0
	Subtotal	39	0	1	0	38	0
Lavoura	Peq. Propriedade	54	0	0	54	0	0
	Méd. Grand. Prop.	19	0	0	19	0	0
	Subtotal	73	0	0	73	0	0
Variedade Local	Peq. Propriedade	9	0	0	0	0	9
	Méd. Grand. Prop.	2	0	0	0	0	2
	Subtotal	11	0	0	0	0	11
Não Identificada	R. Rural	1	0	0	0	0	1
	Subtotal	1	0	0	0	0	1
Total Geral		290	31	56	137	44	22

Também se verificou que 41% das plantas de algodoeiro mocó provieram de sementes distribuídas entre familiares (38,6%) e amigos/vizinhos (2,4%). E que 11,7% das sementes foram oriundas do comércio local, prática observada apenas no estado do Ceará.

A manutenção das plantas de algodoeiro mocó está intimamente ligada ao uso da mesma pela população local. Elas são empregadas para diversos fins, incluindo medicinal, assepsia de ferimentos, confecção de pavios de candeeiro, fiação e para a agricultura comercial. A maior fração do total de acessos é destinada ao uso doméstico como fitoterápico (20,9%) e para produzir pavios (29,7%). Apenas no Rio Grande do Norte não evidenciou o uso medicinal, sendo a utilização para candeeiro predominante, como também foi verificada para os estados do Maranhão

e Piauí. O uso para fiação (4,41%) sobrevive graças aos mais velhos, que ainda cultivam e vendem a fibra ou realizam a fabricação de fios e têxteis artesanais, verificada em apenas alguns pontos de coleta de todos os estados estudados, exceto para o Rio Grande do Norte. A venda da fibra foi verificada apenas no estado do Ceará (19,41%) devido a ainda haver agricultores dispostos a cultivar o algodoeiro mocó e comerciantes que intermedeiam a compra e promovem a distribuição das sementes. Uma proporção elevada do total de plantas coletadas, 25%, não era usada pelos proprietários. Tais plantas incluem, principalmente, aquelas presentes em beira de estrada, ferais e variedades locais encontradas com frequência nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Paraíba (Figura 4).

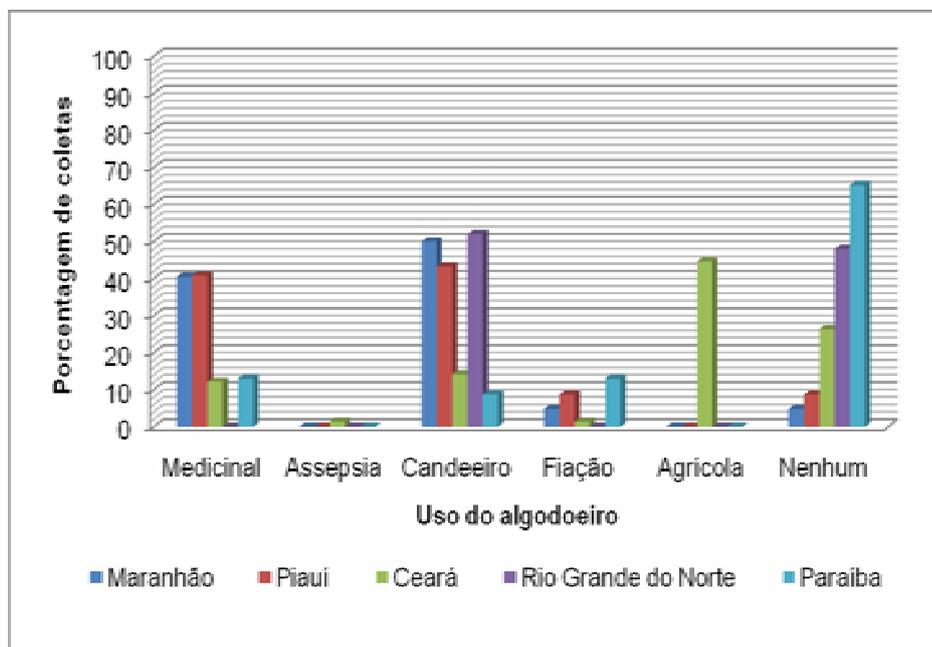


Figura 4. Porcentagem de plantas de algodoeiro mocó quanto ao uso.

A caracterização morfológica *in situ* dos algodoeiros mocós plantados nos estados visitados abrangeu algumas características que poderiam ser avaliadas durante as coletas e que sofreriam pouca influência do ambiente. A informação para cada genótipo se encontra disponível no site www.cnpa.embrapa.br/albrana.

Todas as plantas de mocó apresentaram folhas verdes e sementes separadas, as quais são características intrínsecas deste algodoeiro (Pinheiro, 1974). Quase de forma exclusiva, os algodoeiros mocós observados *in situ* em todos os estados visitados apresentaram fibra branca (98,25%). Materiais com fibra colorida

(2,75%) foram localizados nos municípios de Caicó (RN), Barbalha (CE) e São Braz do Piauí (PI), com fibra bege, bege e marrom, respectivamente.

A maioria das plantas de algodoeiro mocó apresentava flores no período de coleta, 82,4%. Entre aquelas que apresentavam flores, verificou-se haver diversidade quanto à presença de mancha nas pétalas. A maior parte as possuía, sendo a intensidade forte, média e fraca em 62,2%, 18,9% e 7,1%, respectivamente. Plantas classificadas como algodoeiro mocó sem manchas nas pétalas foram verificadas apenas nos estados do Maranhão e do Piauí (Figura 5).

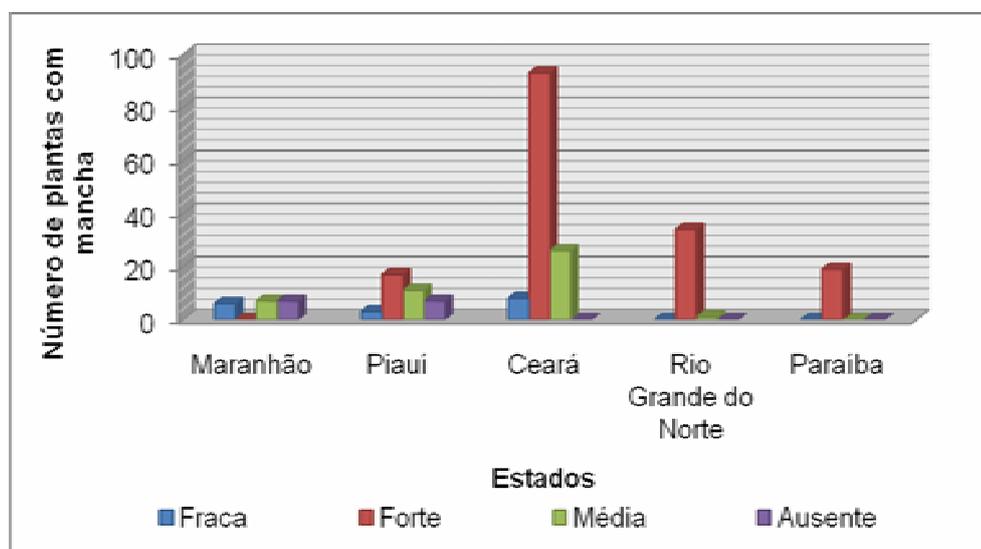


Figura 5. Número de plantas com mancha nas pétalas de algodoeiro mocó.

Considerando todo o conjunto de plantas, a ausência de línter nas sementes foi predominante, embora em quase todos os estados tenham sido encontrados exemplares com línter (Figura 6). A única exceção as plantas encontrados na Paraíba, em que todas as plantas produziam sementes sem línter. Estranhamente, a maioria das plantas de algodoeiro mocó do estado do Maranhão, apresentavam línter (87,1%). A área de coleta relativamente restrita neste estado, considerada associada à convergência morfológica neste caráter, pode indicar que as plantas devem ter uma única procedência, visto que 98% dos algodoeiros mocós identificados são procedentes de quintais, com uma densidade em média de 1,97 por ponto de coleta; e a procedência das sementes é da distribuição entre familiares, amigos e vizinhos. Tais condições aumentam a probabilidade de homozigidade por descendência. Outro fator que corrobora com esse fato são a baixa diversidade

genética e o elevado índice de endogamia observado para 12 locos de microssatélites, mostrados no segundo capítulo. Uma coleta mais ampla neste estado permitirá identificar se em outras regiões do Maranhão também ocorre este predomínio.

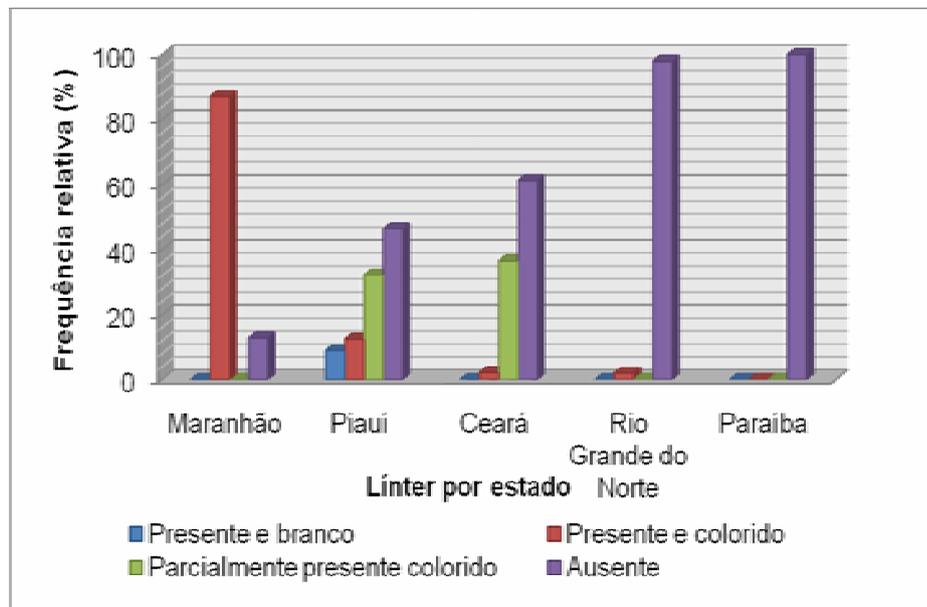


Figura 6. Porcentagem de algodoeiros mocós, segundo presença de línter.

A ausência de manchas nas pétalas, bem como a presença de línter em algodoeiro mocó é um indício de fluxo gênico a partir de algodoeiros herbáceos (Neto Vidal et al., 2007). Com relação às outras características morfológicas, as plantas apresentavam características predominantes de algodoeiro mocó, assim as introgressões verificadas não devem ser muito recentes, de forma a terem permitido, por retrocruzamentos, a recuperação das características do mocó (Johnston et al., 2006).

O fluxo gênico pode ter ocorrido de duas maneiras. A primeira seria por meio da fertilização de flores de algodoeiro mocó com pólen proveniente de lavouras de algodoeiros herbáceos. Diversos fatores contribuem para que ocorra fluxo gênico: a) o algodoeiro mocó pratica taxas de fecundação cruzada relativamente elevadas; b) ambos os algodoeiros compartilham polinizadores; c) há florescimento parcialmente coincidente; d) desconhecem-se barreiras sexuais (Pires et al., 2006; Freire et al., 2002). Na segunda, a contaminação teria acontecido por mistura de sementes. Parte das lavouras era formada a partir da chamada semente de boca de máquina. Na

verdade, trata-se de caroços obtidos após o beneficiamento nas algodoeiras, sem qualquer procedimento para garantir a pureza genética, situação em que é comum a mistura de sementes de diferentes raças ou espécies (Pinheiro, 1974; Freire e Crisóstomo, 1980; Freire et al., 1999). Uma vez plantados na mesma área, as plantas das duas raças cruzavam-se, incrementando a introgressão entre as espécies, as quais apresentam taxas de polinização cruzada variando de 30 a 80% (Freire et al., 1999).

A presença de algodoeiro com ausência de mancha nas pétalas nos estados do Maranhão e Piauí, como a presença de línter podem ser remanescentes de algodoeiros verdões, cultivados na região Nordeste na primeira metade do século XX (Pearce, 1921; Freire e Crisóstomo, 1980), que podem ter sido mantidos para fabricação de produtos artesanais (Moreira, 1976).

4.3.2.3 Dados culturais

Na Paraíba, em apenas um local, no município de Ibiara (PB), colhia-se a fibra de uma lavoura remanescente com 50 indivíduos adultos (10 a 20 anos). Em Serra Negra do Norte (RN), foi declarado pelo proprietário de 35 indivíduos adultos (5 a 10 anos) a realização de colheita e o beneficiamento das sementes de forma manual. No estado do Piauí a colheita era realizada com frequência mais elevada (7 dos 56 acessos). Não se realizava colheita em nenhuma das plantas coletadas no Maranhão. No estado do Ceará, devido a existência de lavouras destinadas à venda da fibra, a colheita era realizada em 40,5% das propriedades (Albrana, 2008).

4.3.2.4 Dados fenológicos

Considerando amostra total das plantas coletadas, a maioria dos algodoeiros apresentou acima de dois metros de altura, sendo a classe mais freqüente de 2 a 3m com 43,4% das plantas amostradas e, em seguida a de acima de 3m com 40,6%. As outras classes de 0,5 a 1m e de 1 a 2m foram bem menos freqüentes 1,6% e a 14,4%, respectivamente (Figura 7). Assim, a distribuição das plantas conforme as classes de alturas em cada estado mostram ser altas.

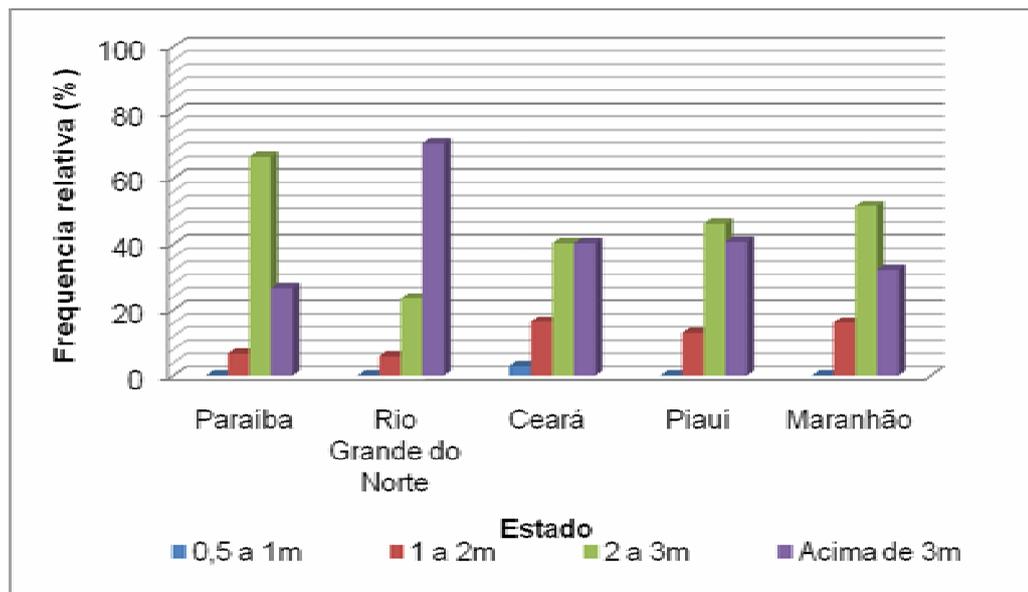


Figura 7. Porcentagem de algodoeiro mocó segundo a altura em metros.

Verificou-se também que a maior parte das plantas é adulta, sendo que a idade estimada de mais da metade das plantas (62%) foi de 4 a 10 anos. Desta forma pode-se dizer que as plantas estão vivendo cerca de 4 a 10 anos em todos estados, com exceção das plantas encontradas no estado da Paraíba que ultrapassam os 20 anos. Esta observação é congruente com o registro de abandono há décadas de lavouras nos estados da Paraíba e Rio Grande do Norte declarado pelos moradores. O número de plantas jovens foi ausente na Paraíba e bastante reduzido nos estados do Maranhão, Piauí e Rio Grande do Norte com três, quatro e uma planta, respectivamente. Logo, a renovação das plantas nestes estados está ocorrendo apenas em pequena taxa.

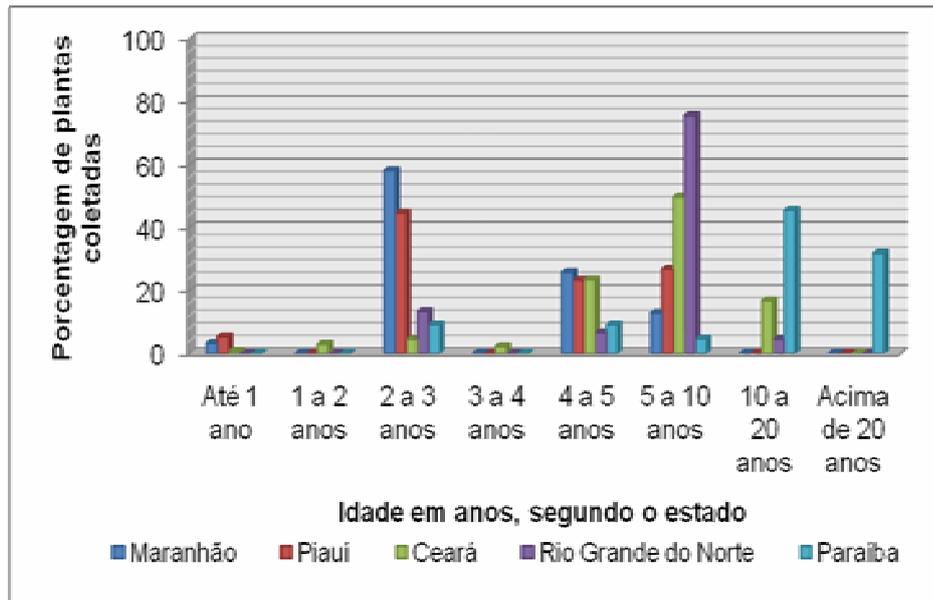


Figura 8. Porcentagem de algodoeiro mocó segundo a idade em anos.

Durante décadas, o algodoeiro mocó foi uma das principais atividades econômicas do semi-árido. O ápice de cultivo ocorreu durante os anos 70, em que mais de 2 milhões de hectares foram cultivados. A área começou a reduzir devido à forte seca que ocorreu na região nordeste entre os anos de 1979 a 1983. Terminada a seca, um grave problema fitossanitário foi acrescentado ao sistema produtivo: a introdução do bicudo do algodoeiro (Moreira et al., 1989). Embora práticas de convívio com o inseto tenham sido disponibilizadas pela pesquisa, a implementação representava um custo adicional que não poderia ser arcado pelos agricultores. Nos anos seguintes, uma série de fatores econômicos e sociais agravou ainda mais a crise causada pelo bicudo e acabaram de romper o frágil equilíbrio econômico da lavoura do algodoeiro mocó.

Prevedendo uma possível desaparecimento deste algodoeiro, Moreira et al. (1989) sugeriram medidas para evitar a extinção desta cultura: fazer um novo zoneamento de cultivo; implementar de programa de multiplicação e distribuição de sementes recomendadas pelo CNPA; colocar em prática as medidas de convívio com a praga do bicudo; estabelecer uma política de preços mínimos para fibra do Seridó e oferecer linhas de crédito para incentivar o plantio de algodoeiro mocó. Porém, tais medidas não foram executadas e, em consequência constata-se completa falência do cultivo deste algodoeiro no semi-árido do Nordeste. Segundo o IBGE, em 2007, a área plantada abrange apenas 847 hectares. Nas expedições constataram a quase inexistência de lavouras ainda exploradas, e fazem supor que

a efetiva área cultivada pode ser ainda menor, uma vez que estes dados não foram coletados pelo IBGE por visitas aos locais ou medições das áreas, que frequentemente são plantas remanescentes em propriedades pequenas cultivadas com diferentes espécies, e cuja área, portanto, é difícil de ser corretamente estimada. A não comercialização faz com que a informação seja pouco útil. No momento em que as coletas foram realizadas, os agricultores teriam grande dificuldade em comercializar o algodão em caroço caso resolvessem voltar a produzir. Isto porque quase todas as usinas de beneficiamento foram desativadas à exceção do Ceará, em que uma fraca cadeia ainda persiste, e praticamente não há compradores de algodão mocó em caroço.

O número de algodoeiros mocós observados em cada ponto de coleta foi pequeno. Encontrou-se, em média, 1,00; 1,10; 2,54; 1,52 e 1,00 nos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte e Paraíba, respectivamente. O maior número médio de plantas foi encontrado nas lavouras, seguido pelas plantas ferais. O número modal de plantas coletadas foi de fundo de quintal que eram usados, principalmente, para fins medicinais e na confecção de pavios para candeeiro. Todavia uma grande parcela das plantas (25%) não apresenta uso, o que pode ser também interpretado como preservação para ornamentação. É plausível supor, entretanto, que um real abandono das plantas em quintais vem gradativamente, devido a programas de expansão de eletricidade e de saúde, os quais têm levado a perda da função do algodoeiro, e por ficar claro nas entrevistas que são pessoas mais velhas que zelam pela preservação dos algodoeiros em jardins, e que pessoas mais novas da mesma residência não percebem os usos da planta da mesma forma.

O conjunto dos resultados permitiu perceber que o cultivo e os usos caseiros do algodoeiro mocó estavam em decadência no momento em que as coletas foram realizadas. Um fato relacionado é a redução numérica dos algodoeiros mocós associada a ausência de plantas jovens. Apenas 8 foram encontradas, quatro no Piauí, três no Maranhão, uma no Rio Grande do Norte e ausente na Paraíba. No caso de plantas mantidas em quintais esse número reduzido está associado à limpeza. Quando a densidade de plantas e sua distribuição são comparadas com expedições anteriores, a quantidade de plantas ferais presentes em capoeiras está em declínio. Provavelmente, a razão é a predação de sementes por roedores, a herbívoros de animais de criação e a menor capacidade de resiliência do algodoeiro

mocó em relação à vegetação nativa. Portanto, é improvável que ações que visem a conservação *in situ* de algodoeiros mocós sejam efetivas ou possam ser implementadas. Conclusão similar foi obtida em outros trabalhos recentes com algodoeiros coletados (Barroso et al., 2005b; Almeida, 2007; Ribeiro, 2008). Portanto, a manutenção *in situ* não é um meio adequado à conservação dos recursos genéticos dos algodoeiros mocós que ainda são encontrados no semi árido nordestino. Os esforços devem ser direcionados para a continuidade das coletas, manutenção e caracterização *ex situ*.

4.4 CONCLUSÕES

- A espécie *G. hirsutum* raça *marie galante* ainda predomina no semi árido da região nordeste com a grande maioria encontrada em fundo de quintal e plantas ferais;
- A manutenção *in situ* da espécie está ligada a hábitos culturais locais, principalmente, nos estados da Paraíba, Rio Grande do Norte, Piauí e Maranhão. No estado do Ceará a manutenção da espécie está ligada a pratica agrícola;
- Para apropriada conservação do reservatório dos recursos genéticos da espécie presentes nos estados estudados devem ser ampliadas e manejadas de forma adequada em coleções *ex situ* de germoplasma.

Capítulo II

Genética Populacional de Algodoeiro *Gossypium hirsutum* raça *marie galante* do Nordeste do Brasil

RESUMO

O algodoeiro mocó foi amplamente cultivado na região nordeste no século XX, e drasticamente reduzido após 1983 com a introdução do bicudo. Atualmente são encontradas plantas em quintais e em lavouras além de alguns poucos campos abandonados e plantas de beira de estrada. Estes estão continuamente diminuindo, e ainda podem ser uma fonte valiosa de diversidade genética, principalmente, por apresentarem caracteres que permitam maior adaptabilidade a climas secos. Objetivou-se caracterizar a variabilidade e o padrão da estrutura genética de amostras de algodoeiros *Gossypium hirsutum* raça *marie galante* presentes nos estados da Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará, Piauí e Maranhão para ajudar no planejamento de estratégias para a conservação. Um conjunto de 17 algodoeiros da Paraíba, 20 do Rio Grande do Norte, 72 do Ceará, 47 do Piauí e 31 do Maranhão, totalizando 187 acessos foram coletados em expedições nos anos de 2004 e 2005. Foram analisadas usando 12 pares de primers SSR. Todos os locos utilizados foram polimórficos, com exceção dos locos BNL840 na população do Ceará e o CIR246 no Maranhão e amplificaram um total de 63 alelos diferentes. O estado do Piauí foi o detentor de maior variação alélica, seguido do Ceará, Paraíba, Rio Grande do Norte e Maranhão. O coeficiente de endogamia médio foi de 0,601, com amplitude entre os estados de 0,339 no Ceará a 0,933 no Maranhão. A diversidade genética total foi de 0,520. A maior variabilidade genética foi encontrada nos genótipos coletados no estado do Piauí, seguido da Paraíba, do Rio Grande do Norte e do Ceará. A menor foi verificada no estado do Maranhão. A maior fração da variabilidade concentrou-se dentro dos estados ($G_{ST} < 0,5$), enquanto uma parte menor, contudo expressiva, encontra-se entre as populações (F_{ST} e G_{ST} ; $p < 0,01$), a qual representa cerca de 29% da diversidade total. As análises realizadas para verificar a similaridade entre os algodoeiros mocós de cada estado e o dendrograma permitiram identificar que os materiais coletados no Ceará foram os mais divergentes e que os provenientes do Rio Grande do Norte e Paraíba detinham variabilidade similar. Dado haver elevada diversidade entre algodoeiros mocós presentes nos estados incluídos neste estudo, não é possível priorizar a coleta ou a conservação *in situ*. Para a adequada conservação, ações devem ser empreendidas isoladamente nos estados do Piauí, Maranhão e Ceará. No Rio Grande do Norte e Paraíba, as ações podem ser delineadas de modo conjunto.

Palavras-chave. Algodoeiro mocó, diversidade genética, marcador SSR, conservação

Population Genetics of *Gossypium hirsutum* race *marie galante* Cotton from Brazil's Northeast

ABSTRACT

Moco cotton was widely cultivated in Brazil's Northeast region at the XX century, and drastically reduced after 1983 with the introduction of boll weevil. Nowadays plants are found in dooryards and farmings, in addition to few abandoned crops and some roadsides plants. These are continually reducing, and can still be a valuable source of genetic diversity, mainly due to present characters that allow greater adaptability to drought. The objective was to characterize the variability and pattern of genetic structure of samples of cotton plants *Gossypium hirsutum* race *marie galante* collected in states of Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará, Piauí and Maranhão to assist in planning strategies for conservation. A set of seventeen cotton plants from Paraíba, twenty from Rio Grande do Norte, seventy-two from Ceará, forty-seven from Piauí and thirty-one from Maranhão, totalizing one hundred and eighty-seven access were collected in expeditions during the years of 2004 and 2005, were analyzed using twelve SSR primer pairs. All loci used were polymorphic, except the loci BNL840 in Ceará population and CIR246 in Maranhão. They amplified a total of sixty-three different alleles. The state of Piauí had higher allelic variation, followed by Ceará, Paraíba, Rio Grande do Norte and Maranhão. The average inbreeding coefficient was 0.601, with amplitude between the states of 0.339 in Ceará to 0.933 in Maranhão. Total genetic diversity was 0.520. The higher genetic variability was found in genotypes collected in state of Piauí, followed by Paraíba, Rio Grande do Norte and Ceará. The lower one was verified in the state of Maranhão. The largest fraction of the variability is concentrated in the states ($G_{ST} < 0.5$), while a smaller part, however significant, is among the populations (F_{ST} e G_{ST} ; $p < 0.01$), which represents approximately 29% of the total diversity. The analysis carried out to verify the similarity between the moco cotton plants of each state and the dendrogram allowed to identify that the materials collected in Ceará were the most divergent and that the ones from Rio Grande do Norte e Paraíba had similar variabilities. Since a high diversity among moco cotton plant is present in the states included in this study, it is not possible to prioritize collections or the conservation *in situ*. For the proper conservation, actions must be undertaken isolated in the states of Piauí, Maranhão and Ceará. In Rio Grande do Norte and Paraíba, the actions can be outlined together.

Key words. Moco cotton, genetic diversity, SSR markers, conservation

5.1 INTRODUÇÃO

O algodoeiro mocó (*Gossypium hirsutum* r. *marie galante*) é uma das sete raças da espécie alotetraplóide *G. hirsutum* (Hutchinton, 1951). É a única raça de *G. hirsutum* que apresenta um porte arbóreo. Ela destaca-se entre as demais devido a apresentar uma distribuição geográfica mais ampla e ser simpátrica com outros algodoeiros em praticamente em toda sua área de ocorrência (Stephens, 1973). No Brasil, é encontrada principalmente no semi-árido nordestino, na forma de variedade comercial, populações ferais e de fundo de quintal (Freire, 2000).

A região nordeste detém grande variabilidade do gênero *Gossypium*. É a única região conhecida no Brasil que abriga três das cinco espécies alotetraplóides: *G. hirsutum*, *G. barbadense* e *G. mustelinum*. O algodoeiro mocó é monóico, com um sistema misto de reprodução, que segundo Freire et al. (2002) apresenta acentuada taxa de polinização cruzada por insetos. É sexualmente compatível com os demais algodoeiros tetraplóides, inclusive com as cultivares comerciais de algodoeiro herbáceo, com os quais formam híbridos viáveis e vigorosos (Silva et al., 1982). Desta forma os algodoeiros mocós podem ser utilizados como fonte potencial de variabilidade em programas de melhoramento.

As mudanças climáticas, o aquecimento global (Santos, 2007) e a intensificação da cotonicultura nestes últimos anos (Conab, 2007) poderão expor as lavouras a níveis de estresse abióticos ou bióticos mais intensos. Desta forma, o desenvolvimento de novas variedades que possuam combinações de caracteres que permitam obter maior tolerância à seca, a altas temperaturas e a doenças representa o principal desafio para o melhoramento.

A cultura do algodoeiro mocó foi explorada no semi-árido nordestino, devido a sua adaptabilidade às adversidades do ambiente, particularmente à seca. As lavouras chegaram a ocupar cerca de dois milhões de hectares na década de 70 (Freire, 2000). Seu cultivo entrou em declínio acentuado após a introdução da praga do bicudo do algodoeiro (*Anthonomus grandis*). Atualmente, a manutenção dos remanescentes de algodoeiros mocós *in situ* está ameaçada e acredita-se que parte da diversidade já foi perdida. Apesar de muitos acessos já terem sido coletados, as coleções devem conter apenas parte da variabilidade existente.

Os estados do Piauí, Maranhão, Ceará, Rio Grande do Norte e Paraíba apresentam boa parte de sua história associada ao algodoeiro. No período colonial, a espécie *G. barbadense* foi cultivada em escala para produzir fibra para atender a demanda do mercado interno e para ser exportada para a Europa (Boulanger, 1971). Posteriormente, algodoeiros mocó e verdões foram cultivados por pequenos agricultores e meeiros (Freire e Crisóstomo, 1980). Na atualidade, o algodoeiro herbáceo é cultivado na região do cerrado, incluindo o nordeste brasileiro, enquanto lavouras de algodoeiro mocó tornaram-se raras.

O conhecimento do padrão da distribuição da diversidade genética compartilhada entre os estados nordestinos é importante para o delineamento de estratégias adequadas de conservação *in situ* e *ex situ*. Tais informações podem ser obtidas empregando marcadores moleculares, dentre eles se destacam os marcadores codominantes (Baloux & Lugor-Moulin, 2002; Lemes et al., 2003). Marcadores SSR desenvolvidos especificamente para algodão (Liu et al., 2000; Nguyen et al., 2004) tem sido utilizado em estudos de caracterização de germoplasma de algodão herbáceo (Menezes et al., 2008), em populações naturais de *G. mustelinum* (Batista, 2005) e amostras de *G. barbadense* (Almeida, 2007). Estudos de diversidade já foram realizados com marcadores morfológicos (Freire et al, 1990; 1998; Freire e Moreira, 1991; Moreira et al., 1995), mas até o momento não há trabalhos em que a diversidade de algodoeiro mocó tenha sido estimada com marcadores moleculares.

Este trabalho teve como objetivo caracterizar a variabilidade e o padrão da estrutura genética de amostras de algodoeiros *Gossypium hirsutum* raça *marie galante* presentes no nordeste do Brasil, através de marcadores de microssatélites, com implicações para preservação do germoplasma coletado.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Material de estudo

A prospecção de coleta dos recursos genéticos de algodoeiros mocós foram realizadas em 6 expedições, no período de 2004 a 2005. Durante as expedições 290 acessos de algodoeiros mocós foram identificados e coletados, com autorizações do CGEN e IBAMA, folhas ou pétalas, estacas e sementes para ampliar a coleção de germoplasma da Embrapa Algodão. A distribuição dos algodoeiros remanescentes, e portanto das coletas, concentrou-se na faixa de clima semi árido (com 400 a 600mm de precipitação/ano) na vegetação de caatinga, correspondente aos estados do Maranhão (altitude de 46 a 118m), Piauí (altitude de 60 a 533m), Ceará (altitude de 29 a 752), Rio Grande do Norte (altitude de 147 a 600m) e Paraíba (altitude de 234 a 613). Os tecidos foram posteriormente usados para realização de análises com marcadores moleculares.

5.2.2 Extração de DNA

Cada genótipo foi representado pelo DNA genômico extraído a partir de cinco sementes de cada planta de algodoeiro mocó coletada *in situ*. Amostras de sementes com cerca de 50 mg foram colocadas em tubos de 2 mL com um esfera aço de inox (4 mm). Adicionaram-se 700 µL de tampão de extração (SDS a 10%, 5M de NaCl, 0,5M EDTA, 1M de Tris HCl pH 7,5) e a mistura foi agitada até a maceração dos tecidos. O extrato foi centrifugado a 11.700 g por 7 min. A fase líquida foi transferida para tubos de 1,5 mL, à qual se adicionou 10 µL de proteínase K (10 mg mL⁻¹) e 10 µL de CaCl₂ 1 mM, incubando em banho-maria à 37°C por 30 min. Para precipitação do DNA foi adicionado uma parte de isopropanol gelado (v/v) e centrifugado a 11.700 g por 10 min. O pellet foi lavado duas vezes com etanol a 70%, uma vez com etanol absoluto e ressuspensão em tampão TE (10 mM, 1 mM EDTA). Alíquotas do volume total de DNA extraído foram quantificadas por comparação visual das bandas, geradas de uma série de concentrações conhecidas de DNA fago λ (50, 100, 200, 300 e 400 ng) em géis de agarose 0,8% corados com Sybr green (Zippe & Brunner, 2004). O DNA foi diluído em TE para uma

concentração de uso de 10 ng μL^{-1} . Em seguida o DNA das cinco sementes que representavam um genótipo foi misturado de modo que a solução estoque usada nas reações de PCR continha 2 ng μL^{-1} de DNA cada uma das cinco plantas.

5.2.3 Obtenção de marcadores SSR

Um conjunto de 12 pares *primers* anteriormente desenvolvidos especificamente para algodoeiro (Liu et al., 2000; Nguyen et al., 2004) foram usados na genotipagem (Tabela 1). A reação de PCR foi realizada para se obter um volume total de 20 μL , contendo cerca 4 a 5ng de DNA genômico, 10 mM de Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM de KCl, 2 mM MgCl_2 , 0,2 mM dNTP, 0,6 unidade Taq DNA polimerase e 0,4 mM de cada *primer*.

Tabela 1. *Primers* selecionados para caracterização genética.

Primer	Motivo	Cromossomo	Primer	Motivo	Cromossomo
CIR148	TG ₈	c12	BNL 840	CA ₁₉	D08
CIR203	TG ₁₁ N ₁ TG ₅	c6	BNL1421	-	A01
CIR212	TG ₂₀	c3 D08	BNL1434	AG ₁₃	2
CIR246	TG ₆	c14	BNL1551	GA ₂₂	D02
CIR249	CA ₈ N ₃ AT ₇	c4	BNL 2496	GA ₁₅	c17
CIR311	AC ₁₇	c15	BNL 3103	GA ₁₄	c25

A reação de amplificação foi realizada em termociclador, com as seguintes etapas para os pares de *primers* **CIR**: desnaturação inicial do DNA a 94°C por 5 min; seguido de 35 ciclos constituídos de desnaturação a 94°C por 30 s, temperatura de anelamento de acordo com cada par de *primer* (46°C a 55°C) por 1 min e extensão a 72°C por 1 min; extensão final a 72°C por 8 minutos. Para os pares de *primers* **BNL** utilizou o seguinte programa: desnaturação inicial a 95°C por 12 min, seguido de 35 ciclos de temperatura, sendo cada ciclo composto por 93°C por 1 min, 55°C por 2 min e 72°C por 3 min, com uma extensão final a 72°C por 7 min.

Após a reação foram adicionados 10 μL de solução contendo 0,05% de azul de bromofenol, 0,05% de xileno cianol, EDTA 10mM e formamida 95%. Os produtos de amplificação foram desnaturados a 95°C por 5 min no termociclador, em seguida, imersos em gelo. Alíquota da solução final de cada produto de PCR foi

aplicada em gel de poliacrilamida a 6% e separados por eletroforese vertical, corados conforme Creste et. al. (2001).

5.2.4 Análises dos dados

Os marcadores SSR foram interpretados atribuindo-se valor 1 para os homozigotos do 1º alelo; 2 para os homozigotos do 2º alelo amplificado e 1:2 para os heterozigotos para cada loco com dois alelos, no caso de três ou mais alelos a identificação numérica percorreu em ordem crescente de pares bases em relação à posição final de migração das bandas. Em seguida foi confeccionada uma matriz quantitativa que serviu para análises genéticas. O tamanho dos fragmentos de DNA obtidos pela amplificação de produtos SSR nos géis de acrilamida foram estimados de acordo com a distância de migração em centímetro das bandas geradas por pares *primers*. Foi utilizando marcador de peso molecular (Ladder 50pb) como referência para inferir o peso molecular em pares de base (pb) dos fragmentos amplificados. As expressões usadas para estimar os fragmentos amplificados foram obtidas pelas regressões de melhor ajuste de acordo com o programa Table curve 2D (Bruno, 1994).

A partir das freqüências alélicas foram estimadas a diversidade genética intrapopulacional, a freqüência de alelos exclusivos, o número médio de alelos, a porcentagem de locos polimórficos, a heterozigosidade esperada e observada (Nei, 1978). Para cada estado foi estimado os índices de endogamia, a estatística *F* de Wright, cujo intervalo de confiança foi obtido pelo processo de reamostragem bootstrap utilizando 10000 repetições. A distribuição da variabilidade entre os estados foram obtidas através da análise das estatísticas de Nei (Nei, 1973; Nei, 1978; Nei, 1987) usando os programas *GDA-Genetic Data Analysis* versão 1.1 (Lewis & Zaykin, 2000) e *FSTAT* (Goudet, 2001).

A matriz de distâncias genéticas entre o conjunto das amostras de cada estado foi estimada por meio proposto por Nei (1978) utilizando o programa *GDA* (Lewis & Zaykin, 2000). E a distância entre os pares de genótipos foi calculada com base na proporção de alelos comuns (Bowcock et al., 1994), usando o programa *MICROSAT* (Minch, 1997). Cada matriz de distancia obtida foi usada para

construção dos dendrogramas por meio do programa MEGA4 (Tamura et al. 2007), empregando-se o agrupamento de Neighbor joining (Saitou & Nei, 1987).

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram genotipados 187 indivíduos, 17 da Paraíba, 20 do Rio Grande do Norte, 72 do Ceará, 47 do Piauí e 31 do Maranhão, utilizando 12 locos de microssatélites. Os 187 indivíduos foram coletados em expedições realizada por funcionários da Embrapa em 5 diferentes estados na região árida do Nordeste do Brasil (Figura 1).

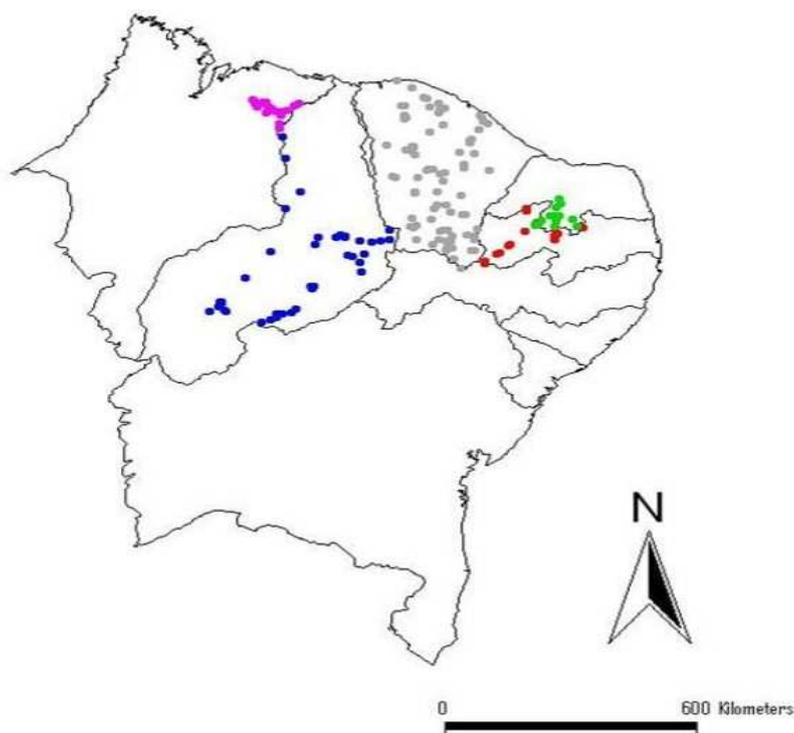


Figura 1. Distribuição de *G. hirsutum* raça *marie galante*. Algodoeiros coletados nos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte e Paraíba.

Todos os locos de microssatélites utilizados foram polimórficos. Considerando os estados individualmente, o loco BNL840 foi monomórfico para o alelo de tamanho 159pb entre os genótipos do Ceará e o para o alelo 161pb do loco CIR246 no Maranhão. A fixação do alelo 159pb pode ter sido causada por seleção humana por ainda existir o plantio comercial no Ceará. Enquanto, a ausência de polimorfismo do CIR246 esteja relacionada ao baixo conteúdo de informação polimórfica. No total foram amplificados 63 alelos distribuídos em 12 diferentes cromossomos localizados tanto no genoma A como no genoma D. Em média, foram obtidos 5,25 alelos polimórficos por loco, com amplitude entre 3 a 8 alelos. Avaliando cada estado, obtiveram-se 2 a 4 alelos polimórficos por loco, com uma média de 3,52 alelos

(Tabela 2). A amostra de algodoeiro do estado do Piauí foi aquela com maior variação alélica, com 53 alelos; seguido do Ceará com 48, Paraíba com 40, Rio Grande do Norte com 39 e o estado do Maranhão com apenas 26 alelos. A variação alélica observada por *primer* foi duas vezes maior que a verificada por Almeida (2007) para germoplasma de *G. barbadense* coletado no Pará e Amapá utilizando outros 12 *primers* de SSR, que amplificaram 39 alelos com média de 2,53 alelos por loco; e quantitativamente maior do que foi amplificado para diferentes espécies (*G. hirsutum* e *G. barbadense*) coletadas no estado de Pernambuco (Ribeiro, 2008).

Tabela 2. Indicadores de variabilidade genética. Número médio de genótipos de algodoeiro mocó avaliados com marcadores SSR, proporção de locos polimórficos, número de alelos total e e para cada estados, heteozigossidade observada (H_o), heterozigossidade esperada (H_E) e coeficiente de endogamia intrapopulacional, segundo o estado.

População	Nº médio genótipos	% de Locos polimórficos	Alelos por loco	Alelos polimórficos por loco	H_o	H_E	F_{IS}
Paraíba	16,66	100	3,33	3,33	0,179	0,451	0,610
Rio Grande do Norte	19,50	100	3,33	3,33	0,179	0,365	0,515
Ceará	68,00	92	4,00	4,27	0,227	0,342	0,339
Piauí	46,50	100	4,41	4,41	0,157	0,580	0,731
Maranhão	30,25	92	2,16	2,27	0,008	0,121	0,933
Média	36,18	96,7	3,45	3,52	0,150	0,372	0,601
Todas	180,91	100	5,25	5,25	0,162	0,520	0,689

A diversidade genética média considerando todos os estados foi de 0,372, tendo variado de 0,121 a 0,580. A maior variabilidade genética foi encontrada nos genótipos coletados no estado do Piauí, seguido da Paraíba, do Rio Grande do Norte e do Ceará. A menor foi verificada no estado do Maranhão (Tabela 2). A diversidade genética dos acessos de algodoeiros mocós por estado é coerente com o número de alelos por loco observado em cada estado separadamente, exceto para amostra de acessos coletada no Ceará. Essa discordância no estado do Ceará está associada a baixa frequência do elevado número de alelos exclusivos e a ausência equitativa das frequências alélicas nos locos analisados (Anexo).

A média das heterozigossidades esperadas por loco foi de 0,520, as quais variaram de 0,183 a 0,775. A heterozigossidade média observada por loco foi bem menor (0,162), apresentando uma amplitude de valores menor que a heterozigossidade esperada. Não foram observados heterozigotos para o loco

BNL840, e a maior proporção de heterozigotos ocorreu para o loco BNL 2496 ($H_0=0,410$). A deficiência de heterozigotos observada em cada loco indicada pelo baixo valor H_0 , tem como conseqüência altos valores de endogamia, que variaram de 0,362 a 1,00, com uma média de 0,689. A provável causa de altos valores de fixação por loco seja a reprodução não aleatória. Entretanto, a morfologia floral do algodoeiro mocó é bastante variável (Neto Vidal et al., 2007), com elevadas taxas de polinização cruzadas (Freire et al., 2002). Além de existirem cruzamentos preferenciais na espécie devido a existir grupos de plantas com período de maturação diferenciado (Moreira et al., 1982). Logo, apenas o modo de reprodução dos algodoeiros verificados *in situ* não explica a elevada endogamia observada.

O excesso de plantas homozigotas foi alto quando descrito por estado, ($F_{IS}=0,601$), indicado, também, pelas baixas heterozigosidade média observadas, que variaram entre 0,008 e 0,227. A quase extinção dos algodoeiros mocós no semi árido nordestino causou um afunilamento genético que explica o elevado nível de endogamia. Atualmente, os riscos de perdas de diversidade dos algodoeiros remanescentes por deriva genética são maiores. A deficiência de heterozigotos devido a deriva e a reprodução não aleatória torna-se mais evidente com os altos valores de endogamia obtidos nos estados do Maranhão (0,933) e Piauí (0,731). Nestes estados há um predomínio de planta de fundo de quintal, com uma ocorrência de 1 a 2 plantas por sítio de coleta, isoladas por barreiras físicas que dificultam a atuação de polinizadores, e desta forma diminui a taxa de polinização. Na Paraíba e Rio Grande do Norte verificaram-se valores de fixação intermediários, de 0,610 e 0,515, respectivamente. Os algodoeiros mocós predominantes nestes estados foram do tipo variedade local e feral, nesta ordem. No passado, foram selecionados e desenvolvidos por programas de melhoramento da Embrapa, e hoje encontram-se em campos abandonados que existem há décadas, fato que pode ter contribuído para o aumento da taxa de cruzamentos. A amostra do estado do Ceará foi a que apresentou o menor coeficiente de endogamia (0,339) (Tabela 2). Esse estado foi, dentre os outros analisados, o único que ainda apresentava lavouras comerciais, e os caracteres selecionados para as lavouras podem diferir bastante daqueles visados para manutenção em quintais. Logo, pode-se deduzir que ocorrem diferentes taxas de autogamia e alogamia, o que confirma que o sistema de reprodutivo do algodoeiro mocó é misto (Freire et al., 2002; Stephens, 1973).

Foram identificados 7 alelos que ocorriam de forma exclusiva nos estados, os quais foram amplificados pelos pares de primers BNL1434, BNL2496, BNL1421, BNL3103, CIR246, CIR148, CIR203 (Tabela 3). O maior número de alelos exclusivos foi observado no estado do Ceará, que apresentou 4 alelos, seguido do Piauí com 2 alelos, e apenas um no Rio Grande do Norte. Com exceção do alelo de tamanho 167pb que ocorre em 25,7% da amostra populacional do Ceará, todos os outros alelos exclusivos ocorreram em baixa frequência, variando de 1,4 a 6,8%. Alto número de alelos exclusivos também foi observado para espécie *G. barbadense* (Almeida, 2007) e para *G. mustelinum* (Batista, 2005). Conforme descrito por Petit et al. (1998) a presença desses alelos exclusivos pode auxiliar, como indicativo, no mérito da escolha da população que deva ser conservada. Caso fossem encontrados em frequências mais altas, também poderia ser usados como marcadores de populações em estudos discriminativos.

Tabela 3. Tamanho e frequência de alelos exclusivos amplificados em algodoeiros mocós por estado.

Locos	Tamanho (pb)	Frequência (%)	Procedência dos genótipos
BNL 1434	236	2,78	RN
BNL 2496	167	25,71	CE
BNL 1421	222	6,78	PI
BNL 3103	209	2,17	PI
CIR 246	172	4,86	CE
CIR 148	146	3,60	CE
CIR 203	242	1,40	CE

A presença de alelos exclusivos pode ser consequência da amostragem ou fruto do isolamento das populações formadas pelos algodoeiros de cada estado estudado. A segunda hipótese seria mais provável, diante do número de amostras e da disposição geográfica dos estados. Entretanto, tem-se observado que a distribuição do algodoeiro plantado no Nordeste brasileiro tem sido influenciada pela migração humana desde século XIX (Moreira et al., 1989; Stephens, 1973). Desta forma a ação antrópica tem estreitado a diversidade algodoeira no Nordeste. Todos os algodoeiros mocós que foram encontrados em cada estado passaram por algum processo de seleção, além de haver evidências de fluxo gênico resultante da prática de troca de sementes geneticamente similares na região que, se fosse considerada uma prática bastante difundida e recente, poderia estar incoerente com a presença

dos alelos exclusivos. É necessário, entretanto, considerar as amplas distâncias geográficas, e a relativa pouca mobilidade da população humana nesta região, e que trocas de sementes normalmente envolve vizinhos próximos.

O Nordeste representa um complexo de cultura do gênero *Gossypium* e que sua extensão há simpatria levantando a hipótese de introgressão de outras espécies de algodão na raça *marie galante*, visto que coletaram-se plantas em campos abandonados há mais de dez anos. Outros estudos em algodão têm mostrado o processo hibridização (Freire et al., 2002), como também a presença de complexo interespecífico no Nordeste brasileiro (Freire et al., 1990; Freire, 2000).

A diferenciação genética (F_{ST}) e a proporção da variabilidade genética (G_{ST}) entre o conjunto de genótipos de cada estado foram estimadas. Os valores mais baixos foram observados entre a Paraíba e Rio Grande do Norte e os maiores entre o Maranhão e Ceará. A maior parte da variabilidade genética está concentrada dentro de cada estado ($G_{ST} < 0,5$), enquanto uma parte menor da diversidade, mais expressiva, encontra-se entre os estados. À exceção dos materiais coletados na Paraíba e no Rio Grande do Norte, todas as demais comparações produziram valores de P significativos (0,05), mostrando que os algodoeiros mocós de cada estado eram diferentes (Tabela 4).

Tabela 4. Proporção da diversidade genética. Medida entre os pares de conjuntos de algodoeiros mocós coletados em cada estado segundo os coeficientes F_{ST} (abaixo da diagonal) e G_{ST} (acima da diagonal).

	Paraíba	Rio Grande do Norte	Ceará	Piauí	Maranhão
Paraíba		0,011 ^{ns}	0,292*	0,101*	0,356*
Rio Grande do Norte	0,012 ^{ns}		0,351*	0,156*	0,382*
Ceará	0,313*	0,354*		0,317*	0,601*
Piauí	0,094*	0,142*	0,328*		0,276*
Maranhão	0,406*	0,411*	0,563*	0,250*	

* $P < 0,05$ (IC_{95%}: 10000 bootstraps); ^{ns} Não significativo

A alta uniformidade genética entre os genótipos da Paraíba e Rio Grande corrobora a alta similaridade quando comparada a alguns marcadores morfológicos (tipo da semente, cor da folha, mancha na flor, presença de línter, cor da fibra e altura). Essa baixa divergência deve-se a um efeito fundador, constituído de variedades comerciais distribuídas no passado e oriundas de programa de

melhoramento da Embrapa Algodão (Freire et al., 1999), além de uma história de troca mútua de sementes entre os cotonicultores em ambos os estados. A alta diferença dos acessos coletados no Ceará dos demais estados estudados pode estar associado a tipos de algodoeiros mocós típicos do sertão cearense, conhecidos como mocozinhas, desenvolvidos em programa de melhoramento próprio para a região (Freire e Crisóstomo, 1980; Moreira et al., 1982; Freire et al., 1999).

Quando foi calculada a distância genética de Nei (1978) entre as amostras correspondentes a cada estado, estas apresentaram um comportamento similar as estatísticas G_{ST} e F_{ST} (Tabela 5). Os acessos de algodoeiros do estado da Paraíba e Rio Grande do Norte são os menos divergentes e os mais diferenciados são entre os algodoeiros do Maranhão e Ceará. Nas demais combinações verificam-se altos valores de divergência, sendo congruente com a variabilidade encontrada. Na análise de agrupamento por estado segundo método de Neighbor Joining, o Ceará foi aquele mais divergente; a Paraíba e o Rio Grande do Norte foram os mais similares e se agruparam de modo intermediário ao grupo formado pelos estados do Maranhão e do Piauí (Figura 2).

Tabela 5 Matriz de distância genética entre grupos de algodoeiro mocó por estado.

	Paraíba	Rio Grande do Norte	Ceará	Piauí
Rio Grande do Norte	0,016			
Ceará	0,319	0,347		
Piauí	0,139	0,172	0,492	
Maranhão	0,231	0,210	0,605	0,177

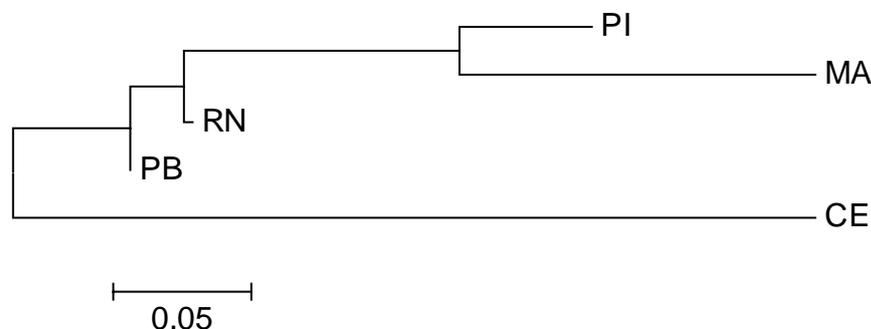


Figura 2. Agrupamento segundo Neighbor Joining dos conjuntos de algodoeiros mocós coletados em cada estado.

Na análise de divergência genética de cada um dos genótipos de algodoeiro mocó avaliados neste estudo verificou-se um agrupamento molecular similar ao observado por estado (Figura 3). Os genótipos do Ceará e do Maranhão estão em grupos bem definidos e separaram-se de outros estados. Os genótipos do Piauí formam dois grupos, intercalados por aqueles do Maranhão, aos quais mais se assemelham. Algodoeiros da Paraíba e Rio Grande do Norte não se distinguem entre si, tampouco formam grupo muito definido, assemelhando-se bastante a um dos grupos do Piauí.

Parte dos materiais coletados no estado do Piauí apresentou elevada similaridade com *G. barbadense*, formando um agrupamento bem definido que incluía um indivíduo de *G. barbadense* coletado no Mato Grosso e um híbrido entre mocó e *G. barbadense*. A outra parte dos materiais do Piauí, todos os genótipos maranhenses e alguns materiais do Rio Grande do Norte e da Paraíba parecem possuir contribuições de algodoeiro herbáceo, devido a características morfológicas (dados não mostrados) e por terem se agrupado ao herbáceo, como mostra a Figura 3. Estes materiais podem ter duas origens: 1) Serem descendentes de materiais desenvolvidos em programas de melhoramento; 2) Ou provenientes de cruzamentos com algodoeiros herbáceo ou verdões cultivados no passado. Os materiais coletados no Ceará formaram um grupo à parte, sendo bem diferenciados dos demais e aparentemente sem contribuições de algodoeiros herbáceos e de *G. barbadense*.

A maioria dos acessos de algodoeiros mocós do estado do Rio Grande do Norte e da Paraíba foi bastante similar, agrupando separadamente dos materiais coletados nos outros estados. Eles devem representar os algodoeiros mocós típicos, oriundos do Seridó, em concordância com o verificado por Freire e Moreira (1991).

Essa estruturação molecular observada entre os algodoeiros mocós coletados provavelmente deva-se ao rezoneamento da espécie estabelecidos principalmente nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte e na Paraíba como medida de mitigar a incidência do verdão nos estados nordestinos (Freire e Crisóstomo, 1980)

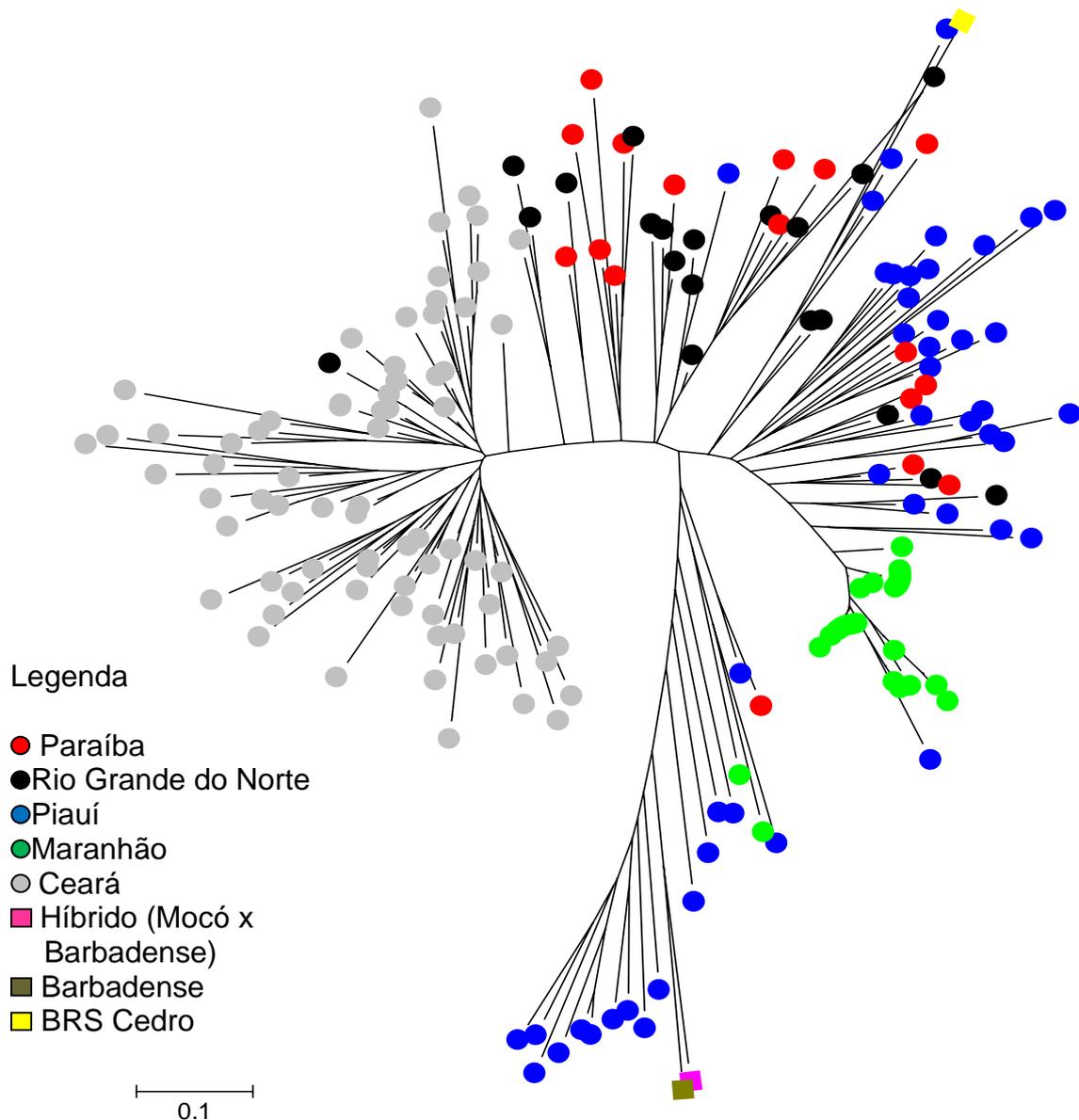


Figura 3. Agrupamento segundo Neighbor Joining de genótipos de algodoeiro mocó avaliados.

Os algodoeiros mocós apresentaram elevada diversidade genética dentro dos estados, e uma expressiva diferença entre as unidades da União (dendrogramas e estatísticas F_{ST} e G_{ST}) (Tabela 2). A diferença acentuada entre os tipos cultivados em cada estado deve-se à ação antrópica e indica haver baixa migração, exceto para os materiais da Paraíba e Rio Grande do Norte.

Os marcadores de microssatélites tem permitido reconhecer a existência de um certo nível de estruturação molecular em algodoeiros. Valores de variabilidade têm auxiliado no delineamento das estratégias de conservação *ex situ* de populações naturais de algodoeiro silvestre (Batista, 2005), de germoplasma de *G. barbadense* e *G. hirsutum* (Almeida, 2007; Ribeiro, 2008).

Com base nestas informações, a amostragem de algodoeiros mocós deve ser realizada isoladamente nos estados do Maranhão, Piauí e Ceará, não sendo possível priorizar coletas de um estado em detrimento do outro. Já para os estados do Rio Grande do Norte e da Paraíba, a amostragem de coleta pode ser em conjunto devido a compartilharem de uma variabilidade similar.

5.4 CONCLUSÕES

- Os estados do Piauí, Ceará, Paraíba e Rio Grande do Norte apresentam elevada diversidade genética de algodoeiro mocó mantida *in situ*;
- Com exceção dos algodoeiros dos estados da Paraíba e Rio Grande do Norte, há diferenças genéticas significativas entre os algodoeiros mocós dos estados estudados, sendo essencial a preservação em banco de germoplasma *ex situ*;

6. DISCUSSÃO GERAL

O conhecimento da distribuição dos locais de ocorrência dos algodoeiros e a análise da diversidade tem sido objeto de estudo há anos em instituições privadas e públicas (Freire, 2000; Carvalho et al., 2003; Ulloa et al., 2006). Mais o seu emprego em programas de melhoramento tem sido limitado ou pouco descrito (Bowman, 2000). O algodoeiro mocó é uma espécie adaptada ao semi árido nordestino que foi amplamente cultivada na região no século XX, e drasticamente reduzida por causas diversas. Embora coletas e avaliação de diversidade e distribuição do algodoeiro mocó nos estados nordestinos tenham sido anteriormente realizadas (Braga Sobrinho e Freire, 1983; Freire e Moreira, 1991; Freire et al., 1990), em vista do desaparecimento da cultura, atualizaram-se diagnose da manutenção *in situ* e a ampliação da coleção. Atualmente, o pouco que resta deste tipo de algodoeiro ocorre como algodão de fundo de quintal, feral, e como voluntária em lavouras e beira de estrada. Ainda se encontra, também, em lavouras comerciais. Estas só foram observadas no estado do Ceará; entretanto em 2007, segundo dados publicados no IBGE (2009) foram encontradas em todos os estados analisados e Pernambuco, com uma área plantada de 849 hectares.

Medidas urgentes devem ser tomadas para que o algodoeiro mocó não desapareça e juntamente com eles seus valores agrícolas. A Embrapa tem se preocupado em preservar o germoplasma do algodoeiro mocó desde sua fundação em 1975. Concentrando esforços em expedições de coletas, no desenvolvimento de cultivares, na multiplicação e distribuição de sementes melhoradas e na geração de conhecimento de praticas de convívio com bicudo. Mas nada disso evitou a drástica redução da espécie no semi árido. É provável que ações complementares devessem ter sido implementadas, a exemplo, das medidas legislativas propostas por Moreira et al., (1989) em estabelecer uma política de preços mínimos para fibra do Seridó; oferecer linhas de crédito para incentivar o plantio de algodoeiro mocó; liberação de 50% do ICM arrecadado pelas as usinas de beneficiamento do algodoeiro mocó para incentivar a produção de sementes, o fomento e a divulgação da cultura.

Este trabalho de caracterização *in situ* de algodoeiro mocó encontrado no semi árido nordestino e de variabilidade molecular têm uma grande relevância para conservação dos recursos genéticos e para programas de melhoramento. O

entendimento do modo como os algodoeiros mocós remanescentes *in situ*, nos estados nordestinos, estão sendo mantida, a localização precisa de sua distribuição geográfica por Sistema de Posicionamento Global (GPS) e a caracterização genética por marcadores de DNA não tinham sido realizados até então.

Essas informações são importantes. As sementes ou estacas de coleta vêm sendo multiplicadas e suas características morfológicas avaliadas. Em conjunto com os dados de coleta (Albrana, 2009) e caracterização molecular, espera-se sugerir melhoria na estratégia de conservação *ex situ* atuais, como também no estabelecimento de medidas a maximizar a diversidade genética em coleta de sementes para compor bancos de germoplasma, como o da Embrapa. A escolha de materiais para constituir avaliações de pré-melhoramento também é facilitada, como a valoração do germoplasma coletado quanto às características agrônômicas e de fibra.

Estratégias tradicionais de manutenção *in situ*, que normalmente adaptam-se a espécies nativas, não parecem ser um meio adequado à conservação dos recursos genéticos dos algodoeiros mocós ainda presentes na região, uma vez que dependem do plantio, e portanto da preservação de costumes. Podem ser possíveis ações de educação que visem esclarecimento das pessoas que mantêm algodoeiros em quintais da importância de sua manutenção *in situ* como recurso genético.

Conforme a elevada diversidade genética ainda encontrada nos estados analisados não se deve priorizar a seleção de sementes de um estado em relação a outro. As coletas devem ser feitas de forma separada em cada estado, amostrando o máximo de indivíduos. E apenas para os algodoeiros dos estados da Paraíba e Rio Grande do Norte podem ser realizada em conjunto ou um em detrimento do outro. Observou-se nas expedições que o número de algodoeiros remanescentes se encontra em declínio acentuado. Coerentemente, os dados moleculares mostram que a variabilidade genética existente está ameaçada, principalmente por efeito da deriva, indicada pelos altos índices de endogamia, nos diferentes locos analisados e nos estados.

Estes algodoeiros detêm de um reservatório genético que pode ser utilizado no desenvolvimento de cultivares. A geração de produtos de valor agrícola tem sido adquirida com uso da variabilidade genética de germoplasma de algodoeiro mocó, por exemplo, o desenvolvimento de cultivares de fibra colorida (Freire, 1999). Outro

valor agregado a espécie é a alta qualidade da fibra e tolerância a seca, o que faz com que permaneça como doadora de genes para estas características.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams, K. L. & Wendel, J. F. (2004). Exploring the genomic mysteries of polyploidy in cotton. *Biological Journal of the Linnean Society*, 82: 573-581.

Agroanalysis (1981). Algodão. Rio de Janeiro: FGV, 5: 1: 3-14.

Albrana, Algodão brasileiro nativo e naturalizado, (2009). Disponível em: < <http://www.cnpa.embrapa.br/albrana> > Acesso janeiro de 2009.

Alfenas, S. A.; Peters, I.; Brune, W. & Passador, G. C. (1991) Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

Almeida, V. C. (2007). Caracterização genética e *in situ* de *Gossypium barbadense* na região norte do Brasil. Mestrado – Universidade Federal do Rio Grande do Norte UFRN, Natal, 77p.

Alves, A. Q. & Quirino, Z. B. (1972). Melhoramento do algodoeiro verdão. *Pesquisa Agropecuária do Nordeste*, 4: 2: 33-60.

Andersen, J. R. & Lubberstedt, T. (2003). Functional markers in plants. *Trends in Plant Science*, 8: 11: 554-560.

Balloux, F. & Lugon-Moulin, N. (2002). The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology*, 11:155-165.

Barros, M. A. L.; Santos, R. F.; Ferreira, P. F. & Silva, K. L. (2002). Diagnóstico dos Mercados Mundial e Brasileiro do Algodão. Campina Grande: Embrapa Algodão, (Comunicado Técnico: 58).

Barroso, P. A. V.; Freire, E. C.; Amaral, J. A. B. & Silva, M. T. (2005a). Zona de Exclusão de Algodoeiro para Preservação de Espécies de *Gossypium* Nativas ou Naturalizadas. Campina Grande: Embrapa Algodão, (Comunicado Técnico: 242).

Barroso, P. A. V.; Costa, J. N.; Ciampi, A. Y.; Rangel, L. E. P. & Hoffmann, L. V (2005b). Caracterização *In Situ* de Populações de *G. barbadense* do Estado do Mato Grosso. Campina Grande: Embrapa Algodão, (Comunicado Técnico: 244).

Batista, C. E. A. (2005). Conservação, diversidade e estrutura gênica de populações de *Gossypium mustelinum* presente no semi-árido Nordeste. Monografia – Universidade Estadual da Paraíba UEPB, Campina Grande, 54p.

Beltrão, N. E. de M. (2003). Breve História do Algodão no Nordeste do Brasil. Campina Grande: Embrapa Algodão, Comunicado Técnico: 117.

Bertini, M. C. H. de; Schuster, I.; Sediyaama, T.; Barros, E. G. & Moreira, M. A. (2006). Characterization and diversity analysis of cotton cultivars using microsatellites. *Genetics and Molecular Biology*, 29: 321-329.

Bezawada, C.; Saha, S.; Jenkins, J. N.; Creech, R. G. & Mccarty, J. C. (2003). SSR Marker(s) associated with root knot nematode resistance gene(s) in cotton. *The Journal of Cotton Science*, 7: 179-184.

Borém, A.; Freire, E. C.; Penna, J. C. V. & Barroso, P. A. V (2003). Considerations about cotton gene escape in Brazil: a review. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 3: 4: 315-332.

Botstein, D.; White, R. L.; Skolnick, M. & Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 3: 314-331.

Boulanger, J. (1971). História da Cultura Algodoeira no Nordeste. *Pesquisa Agropecuária Nordeste*, 3; 01; 15-24.

Bowcock, A. M.; Ruiz-linares, A.; Tomfohrde, J.; Minch, E.; Kidd, J. R. & Cavalli-sforza, I. L. (1994). High resolution of human evolution with polymorphic microsatellites. *Nature*, 368: 455-457.

Bowman, D. T. (2000). Attributes of public and private cotton breeding programs. *The Journal of Cotton Science*, 4: 130-136.

Bowman, D. T.; May, O. L. & Calhoun, D. S. (1996). Genetic Base of Upland Cotton Cultivars Released between 1970 and 1990. *Crop Science*, 36: 577-581.

Braga Sobrinho, R.; Freire, E. C. (1983). Distribuição dos algodoeiros no Nordeste do Brasil. Campina Grande: Embrapa Algodão, (Documentos: 19)

Brubaker, C. L.; Bourland, F. M. & Wendel, J. F. (1999). The origin and domestication of cotton. In: *Cotton: Origin, History, Technology and Production* (Smith, C. W.; Cothen, J. T.). John Wiley e Sons: New York. pp.23-32.

Brubaker C. L. & Wendel, J. F. (1994). Reevaluating the origin of domestication cotton (*Gossypium hirsutum*, Malvaceae) using nuclear restriction fragment length polymorphism (RFLP). *American Journal of Botany*, 81:1309-1326.

Bruno, R. de L. A. (1994). TableCurve 2D Jandel scientific (ASNI software). Version Windows 2.0.

Carvalho, I. P.; Lanza, M. A.; Fallieri, J. & Santos, J. W. (2003). Análise da diversidade genética entre acessos de banco ativo de germoplasma de algodão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38:10: 1149-1155.

Cazé, A. L.; Lucena, V. S.; Menezes, I.P. P.; Hoffmann, L. V. & Ribeiro, J. L. (2008a). Caracterização *in situ* de populações de *G. hirsutum* e *G. barbadense* do

Estado do Piauí. 59º Congresso Nacional de Botânica, 2 a 8 de agosto de 2008. Natal, Brasil.

Cazé, A. L.; Lucena, V. S.; Menezes, I. P. P.; Barroso, P. A. V. & Ribeiro, J. L. (2008b). Avaliação qualitativa dos acessos de algodoeiros coletados *In Situ* no Estado do Maranhão. 59º Congresso Nacional de Botânica, 2 a 8 de agosto de 2008. Natal, Brasil.

Cockerham, C. C. (1969). Variance of gene frequencies. *Evolution*, 23: 72-84.

Cole, C. T. (2003). Genetic variation in rare and common plant. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 34: 213-237.

Conab, Companhia Nacional de Abastecimento. (2007). Disponível em: < <http://www.conab.gov.br/conab/web> > Acesso Julho de 2008.

Creste, S., Tulmann Neto, A. & Figueira, A. (2001). Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. *Plant Molecular Biology Reporter*, 19:299-306.

Duarte, J. M.; Santos, J. B. dos & Melo, L. C. (1999). Comparison of similarity coefficients based on RAPD markers in the common bean. *Genetics and Molecular Biology*, 22: 3: 427-432.

Ellstrand N.C., Prentice, H.C. & Hancock, J.F. (1999). Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 30: 539-563.

Esbroeck, V. G. & Bowman, D. T. (1998). Cotton germplasm diversity and its importance to cultivar development. *The Journal of Cotton Science*, 2: 121-129.

Falconer, D. S. (1987). Introdução a genética quantitativa. Viçosa: UFV. 279p.

Ferreira, M. E. & Grattapaglia, D. (1998). Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. Embrapa: Brasília. 220p.

Freire, E. C. (1999). Algodão colorido. *Biotechnology Ciência & Desenvolvimento*, 36-29.

Freire, E. C. (2000). Distribuição, coleta, uso e preservação das espécies silvestres de algodão no Brasil. Campina Grande: Embrapa Algodão, (Comunicado Técnico: 78).

Freire, E. C.; Barroso, P. A. V.; Penna, J. C. V. & Borém, A. (2002). Fluxo Gênico: Análise do caso de Algodão no Brasil. *Biotechnology Ciência & Desenvolvimento*, 29: 104-113.

Freire, E. C. & Crisóstomo, J. R. (1980). Diagnóstico da expansão do algodoeiro "verdão" e misturas locais no Nordeste e ação de pesquisa. Campina Grande: Embrapa Algodão, (Comunicado Técnico: 08)

Freire, E. C. & Moreira, J. A. (1991). Relações genéticas entre o algodoeiro Mocó e diferentes espécies e raças de algodoeiro. *Revista Brasileira de Genética*, 14: 2: 393-411.

Freire, E. C.; Moreira, J. A.; Santos, J. W. & Andrade, F. P. (1998). Relações taxonômicas entre os algodoeiros mocós e *Gossypium mustelinum* do Nordeste Brasileiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 33:10:1555-1561.

Freire, E. C.; Santos, M. S. S.; Medeiros, L. C.; Andrade, F. P. & Santos, E. O. (1990). Avaliação preliminar da coleção de germoplasmas de algodoeiro arbóreo no nordeste do Brasil. Campina Grande: Embrapa Algodão, (Documentos: 38).

Freire, E. C.; Costa, J. N. & Andrade, F. P. (1999). Recursos genéticos e melhoramento do algodão no Nordeste do Brasil. In: Queiroz, M.A. de; Goedert, C.O.; Ramos, S.R.R., ed. Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro. Petrolina-PE: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Disponível em: www.cpatsa.embrapa.br. Acesso em janeiro de 2009.

Fryxell, P. A.; Craven, L. A. & Stewart, J. McD. (1992). A revision of *Gossypium* Sect. Grandicalyx (Malvaceae), including the description of six new species. *Systematic Botany*, 17:1: 91-114.

Griffiths, A. J. F.; Miller, J. H.; Suzuki, D. T.; Lewontin, R. C. & Gelbart, W. M. (2002). Introdução à genética. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Kookan S. A. 794p.

Goudet, J. (2001). *FSTAT: program to estimate and test gene diversities and fixation indices (Software)*. Version 2.9.3 . Disponível em: <<http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>>. Acesso em: 16 dez. 2006.

Gutiérrez, O. A.; Basu, S.; Saha, S.; Jenkins, J. N.; Shoemaker, D. B.; Cheatham, C. L. & McCarty, J. C. (2002). Genetic distance among selected cotton genotypes and its relationship with F₂ performance. *Crop Science*, 42: 1841-1847.

Hamrick, J.L. (1982). Plant population genetics and evolution. *American Journal of Botany*, 69:10:1685-1693.

Hedrick, P. W. (2005). Genetic of population. Jones and Bartlett Publishers: Massachusetts, 3:737.

Hussein, E. H. A.; Osman, M. H. A.; Hussein, M. H. & Adawy, S. S. (2007). Molecular characterization of cotton genotypes using PCR-based markers. *Journal of Applied Sciences Research*, 3: 10: 1156 – 1169.

Hutchinson, J. B. (1951). Intra-specific differentiation in *Gossypium hirsutum*. *Heredity*, 5: 2: 161-193.

Ibge, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>Acessado em janeiro de 2009.

Iqbal, M. J.; Reddy, O.; El-Zik, K. M. & Pepper, A. E. (2001). A genetic diversity bottleneck in the evolution under domestication of upland cotton *Gossypium hirsutum* L. examined using DNA fingerprinting. *Theoretical and Applied Genetics*, 103:547-554.

Johnston, J. A.; Mallory-Smith, C.; Brubaker, C. L.; Gandara, F.; Aragão, F. J. F.; Barroso, P. A. V.; Quang, Vu Duc; Carvalho, L. P.; Kageyama, P.; Ciampi, A. Y.; Fuzatto, M.; Cirino, V. & Freire, E. (2006). Assessing gene flow from Bt cotton in Brazil and its possible consequences. In: *Environmental risk assessment of genetically modified organisms* (Hibeck, A.; Andow, D. A. & Fontes, E. M. G.). CAB Publishing: Cambridge. pp. 261-299.

Joly, A. B. (1991). Botânica: Introdução à taxonomia vegetal. Nacional: São Paulo. pp. 698 – 704.

Khan, S. A. (2000) . Molecular phylogeny of *Gossypium* species by DNA fingerprinting. *Theoretical and Applied Genetics*, 101: 931-938.

Lacape, L. M.; Dessauw, D.; Rajab, M.; Noyer, J. L. & Hau, B. (2007). Microsatellite diversity in tetraploid *Gossypium* germoplasm: assembling a highly informative genotyping set of cotton SSRs. *Molecular Breeding*, 19: 45-58.

Lemes, M.; Gribel, R.; Proctor, J. & Grattapaglia, D. (2003). Population genetic structure of mahogany (*Swietenia macrophylla* king, Meliaceae) across the Brazilian Amazon, based on variation at microsatellite loci: implications for conservation. *Molecular Ecology*, 12: 2875-2883.

Lewis, P. & Zaykin, D. (2000). Genetic data analysis: computer program for the analyses of allelic data (software). Version 1.0 (d12). Disponível em: <<http://alleyn.eeg.uconn.edu/gda/>>. Acesso: 16 dez. 2006

Linos, A. A.; Bebeli, P. J. & Kaltsikes, P. J. (2002). Cultivar identification in upland cotton using RAPD markers. *Australian Journal of Agriculture Research*, 53: 637-642.

Liu, S.; Saha, S.; Stelly, D.; Burr, B. & Cantrell, R. G. (2000). Chromosomal assignment of microsatellite loci in cotton. *Journal of Heredity*, 91: 4: 326-32.

Liu, B. & Wendel, J. F. (2001). Intersimple sequence repeat (ISSR) polymorphisms as a genetic marker system in cotton. *Molecular Ecology Notes*, 1: 205-208.

Liu, B. & Wendel, J. F. (2002). Non-Mendelian phenomena in allopolyploid genome evolution. *Current Genomics*, 3: 6: 1-17.

Londo, J. P. & Schaal B. A. (2007). Origins and population genetics of weedy red rice in the USA. *Molecular Ecology*, 16: 4523-4535.

Menezes, I. P. P.; Hoffmann, L. V.; Alves, M. F., Morello, C. L. & Barroso, P. A. V. (2008) Distância genética entre linhagens avançadas de germoplasma de algodão com uso de marcadores de RAPD e microssatélites. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43:10: 1339-1347.

Minch, E. (1997). MICROSAT. Version 1.5b. Stanford University Medical Center, Stanford.

Mohammadi, S. A. & Prasanna, B. M. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants – salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, 43: 1235-1248.

Moreira, J. de A. N. (1976). Possibilidades da produção de sementes do algodoeiro verdão sintético, em escala comercial, no nordeste brasileiro. Embrapa Algodão: Campina Grande, (Comunicado Técnico: 26). 11p.

Moreira, J. de A. N.; Freire, E. C.; Santos, R. F. & Barreiro Neto, M. (1989). Algodoeiro Mocó: Uma lavoura ameaçada de extinção. Embrapa Algodão: Campina Grande, (Comunicado Técnico: 36).

Moreira, J. de A. N.; Freire, E. C.; Santos, R. F. e Barreiro Neto, M.; Medeiros, L. C. & Giles, J. A. (1982). Visão retrospectiva do melhoramento genético no algodoeiro mocó (*Gossypium hirsutum* r. *marie galante* Hutch) no nordeste do Brasil. Embrapa Algodão: Campina Grande, (Comunicado Técnico: 12).

Moreira, J. de A. N.; Freire, E. C.; Santos, R. F. & Vieira, R. M. (1995). Use of numerical taxonomy to compare “Mocó” cotton with other cotton species and races. *Revista Brasileira de Genética*, 18: 1: 99-103.

Mullis, K.; Faloona, F. (1987). Specific synthesis of DNA *in vitro* via polymerase catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 55:335-350.

Nei, M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Genetics*, 70: 12: 3321-3323.

Nei, M. (1977). F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided population. *Annals of Human Genetics*, 41: 225-233.

Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 583-590.

Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*, Columbia University Press, New York.

Nei, M. & Chesser, R. K. (1983). Estimation of fixation indices and gene diversities. *Annals of Human Genetics*, 47: 253-259.

Neto Vidal, F. C.; Barroso, P. A. V.; Santos, J. W.; Araújo, G. P.; Andrade, F. P. & Santos, T. S. (2007). Prospecção, coleta e caracterização *in situ* de

populações de espécies do gênero *Gossypium* no estado do Ceará. Embrapa Algodão: Campina Grande, (Documentos, 166).

Neves, O. S. Cavaleri, P. A. Gridi-Papp, I. L. & Fuzatto, M. G. (1965). Algodoeiro selvagem no Nordeste do Brasil. *Bragantia*, 24: 19-25.

Nguyen, T. B.; Giband, M.; Brottier, P.; Risterucci, A. M. & Lacape, J. M. (2004). Wide coverage of the tetraploid cotton genome using newly developed microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 109:167-175.

Orlove, B. S. & Brush, S. B. (1996). Anthropology and the conservation of biodiversity. *Annual Review Anthropology*, 25: 329-52.

Paiva, J. R. & Valois, A. C. C. (2001). Espécies e sua utilização no melhoramento. In. *Recursos genéticos e melhoramento (Plantas)* (Nass, L. L.; Valois, A. C. C.; Melo, I. S.; Valadares-Inglis, M. C). Fundação Mato Grosso, Rondonópolis, pp. 79-99.

Pearse, A. S. (1921). Brazilian cotton. International Federation of Master Spinnere and Manufacteurs Associations: Manchester. 231p.

Petit, R. J.; Mousadik, E. A. & Pons, O. (1997). Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology*, 12: 4: 844-855.

Pillay, M. & Myers, G. O. (1999). Genetic diversity assessed by variation in ribosomal RNA genes and AFLP markers. *Crop Science*, 39:1881-1886.

Pinheiro, D. M. (1974). Para um melhor conhecimento genético dos algodoeiros “mocó” e “verdão”. In. *10 anos de melhoramento genético do algodoeiro “mocó”* (Sudene). Departamento de Agricultura e Abastecimento. pp. 12-20

Pires, C.; Silveira, F. A. da; Oliveira, G. M. de; Cardoso, C. F.; Pereira, F. F. O.; Souza, V. V. de; Nakasu, E. Y. T.; Paes, J. S. de O.; Teles, É.; Silvie, P.; Rodrigues, S.; Miranda, J.; Scomparini, A.; Bastos, C.; Oliveira, G. dos S.; Oliveira; J. E.; Santos, J. B.; Barroso, P. A. V.; Sujii, E.; Fontes, E. (2006). Visitantes florais em espécies cultivadas e não cultivadas de algodoeiro *Gossypium* spp, em diferentes regiões do Brasil. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia: Brasília (Boletim de Pesquisa, 148).

Powell, W.; Crozco-Castillo, C.; Chalmers, K. J.; Provan, J. & Waugh, R. (1995). Polymerase chain reaction-based assay for the characterization of plant genetic resources. *Electrophoresis*, 9:1726-1730.

Rahman, M.; Hussain, D. & Zafar, Y. (2002). Estimation of genetic divergence among elite cotton cultivars-genotypes by DNA fingerprinting technology. *Crop Science*, 42: 2137-2144.

Rana, M. K. & Bhat, K. V. (2004). A comparison of AFLP and RAPD markers for genetic diversity and cultivar identification in cotton. *Journal Plant Biochemistry & Biotechnology*, 13: 19-24.

Rana, M. K. & Bhat, K. V. (2005). RAPD markers for genetic diversity study among Indian cotton cultivars. *Current Science*, 88:12: 1956-1961.

Reddley, M. (2006). *Evolução*. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 752p.

Reddy, O. U. K.; Pepper, A. E.; Abdurakhmonov, I.; Saha, S.; Jenkins, J. N.; Brooks, T.; Bolek, Y. & El-Zik, K. M. (2001). New dinucleotide and trinucleotide microsatellite marker resources for cotton genome research. *Journal of Cotton Science*, 5:103-113.

Ribeiro, C. S. N. (2008). *Caracterização in situ*, molecular e morfológica de acessos de *Gossypium* do estado de Pernambuco. Mestrado – Universidade Federal Rural de Pernambuco UFRPE, Recife, 122p.

Santos, W. J. (2007). Manejo das pragas do algodão com destaque para o cerrado brasileiro. In: FREIRE, E. C. (Ed.) *Algodão no cerrado do Brasil*. Brasília: Abrapa, p. 403-478.

Saitou, N. & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4:406-425

Selkoe, K. A. & Toonen, R. J. (2006). Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters*, 9: 615-629.

Silva, F. P.; Alves, J. F. & Neto, F. V. C. (1982). Herança de características morfológicas e agronômicas no cruzamento de algodão herbáceo, *Gossypium hirsutum* L. raça latifolium, com algodão arbóreo, *Gossypium hirsutum* Hutch, raça marie galante. *Ciências Agronomia*, 13: 1-13.

Southern, E. M. (1975). Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *Journal of Molecular Biology*. 3:503-517.

Stephens, S. G. (1967). Evolution under domestication of New World cottons (*Gossypium ssp*). *Ciência e Cultura*, 19: 118-134.

Stephens, S. G. (1973). Geographical distribution of cultivated cottons relative to probable centers of domestication in the new world. In: *Genes, enzymes and populations*. Srb. ADRIAN, M. Plenum Press. New York. 239-254.

Sturtevant, A. H. (1913). The linear arrangement of six sex-linked factors in *Drosophila*, as shown by their mode of association. *Journal of Experimental Zoology*, 14: 43-59.

Tamura, K.; Dudley, J.; Nei, M. & Kumar, S. (2007). MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 24:1596-1599.

Telles, M. P. C.; Coelho, A. S. G.; Chaves, L. J.; Denis-Filho, J. A. F. & Valva, F. D'A. (2003). Genetic diversity and population structure of *Eugenia dysenterica* DC. ("cagaiteira"- Myrtaceae) in Central Brazil: Spatial analysis and implications for conservation and management. *Conservation Genetics*, 4:685-695.

Torggler, M. G. F.; Contel, E. P. B. & Torggler, S. P. (1995). Isoenzimas variabilidade genética em plantas. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1:186.

Ulloa, M.; Stewart, J. McD.; Garcia-C, E. A.; Gogoy-A, S.; Gaytan-N, A. & Acosta-N, S. (2006). Cotton genetic resources in the western states of Mexico: *in situ* conservation status and germplasm collection for *ex situ* preservation. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53: 653-668.

Vos, P.; Hogers, R.; Bleeker, M.; Reijans, M.; Lee, T. V.; Hornes, M.; Frijters, A.; Pot, J.; Peleman, J.; Kuiper, M. & Zabeau, M. (1995). AFLP: new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 21:4407-4414.

Weber, J. L. & May, P. E. (1989). Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *American Journal of Human Genetics*, 3:388-396.

Weir, B. S. (1996). *Genetics data analysis II: methods for discrete population genetic data*. Sunderland: Sinauer Associates. 445p.

Wendel, J. F.; Brubaker, C. L. & Perciva, I. A. E. (1992). Genetic diversity in *Gossypium hirsutum* and the origin of upland cotton. *American Journal of Botany*, 79:1291-1310.

Wendel, J. F. & Cronn, R. C. (2003). Polyploidy and the evolutionary history of cotton. *Advances in Agronomy*, 78: 139-186.

Westengen, O. T. Huamán, Z. & Heun, M. (2005). Genetic diversity and geographic pattern in early South American cotton domestication. *Theoretical and Applied Genetics*, 110: 392-402.

Williams, J.G.K; Kubelik, A.R.; Livak, K.J.; Rafalski, J.A. & Tingey, S.V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18: 22: 6531-6535.

Wright, S. (1951). The genetic structure of populations. *Annals of Eugenics*, 15: 323-354.

Wright, S. (1965). The interpretation of population structure by F-statistic with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19: 395-420.

Zane, L.; Bargelloni, L. & Patarnello, T. (2002). Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology*, 11: 1-16.

Zang, H. B.; Li, Y.; Wang, B. & Chee, P. W. (2008). Recent advances in cotton genomics. *International Journal of plant genomics*, 2008: 1-20.

Zhang, J.; Lu, Y.; Cantrell, G. R. & Hughs, E. (2005). Molecular marker diversity and field performance in commercial cotton cultivars evaluated in the Southwestern USA. *Crop science*, 45: 1483-1489.

Zipper, H. & Brunner, H. (2004). Investigations on DNA intercalation and surface binding by SYBR Green I, its structure determination and methodological implications. *Nucleic Acids Research*, 39: 1.

Zucchi, M. I. (2002). Análise da estrutura genética de *Eugenia dysenterica* DC utilizando marcadores de microssatélites. Tese Doutorado, ESALQ (Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz) USP, Piracicaba, São Paulo, Brasil.

Zucchi, M. I.; Pinheiro, J. B.; Chaves, L. J.; Coelho, A. S. G.; Couto, A. M.; Morais, L. K. & Vencovsky, R. (2005). Genetic structure and gene flow of *Eugenia dysenterica* natural populations. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40:10: 975-980.

8. Anexo I

Anotação do tamanho dos alelos em pares de bases e das frequências alélicas, por loco em cada estado.

Locos	Tamanho em pb	Paraíba	Rio Grande do Norte	Piauí	Maranhão	Ceará
BNL1434	236	0,000	0,028	0,000	0,000	0,000
	243	0,059	0,000	0,043	0,034	0,000
	248	0,647	0,889	0,596	0,966	0,106
	257	0,176	0,083	0,064	0,000	0,754
	266	0,118	0,000	0,266	0,000	0,099
	274	0,000	0,000	0,032	0,000	0,042
BNL840	149	0,000	0,000	0,234	0,067	0,000
	160	0,000	0,000	0,106	0,000	1,000
	173	0,563	0,588	0,660	0,933	0,000
	181	0,438	0,412	0,000	0,000	0,000
BNL2496	108	0,281	0,105	0,064	0,000	0,021
	112	0,125	0,079	0,011	0,000	0,171
	117	0,063	0,000	0,053	0,000	0,114
	125	0,281	0,500	0,500	0,952	0,129
	126	0,000	0,158	0,106	0,032	0,250
	135	0,000	0,000	0,160	0,000	0,050
	148	0,250	0,158	0,106	0,016	0,007
	167	0,000	0,000	0,000	0,000	0,257
BNL1421	195	0,133	0,225	0,156	0,000	0,234
	199	0,533	0,500	0,411	0,967	0,500
	207	0,267	0,225	0,267	0,033	0,258
	222	0,000	0,000	0,067	0,000	0,000
	228	0,000	0,050	0,044	0,000	0,000
	248	0,067	0,000	0,056	0,000	0,008
BNL1551	157	0,031	0,000	0,255	0,065	0,000
	164	0,031	0,000	0,000	0,000	0,767
	169	0,781	0,889	0,564	0,000	0,183
	173	0,094	0,111	0,128	0,935	0,042
	176	0,063	0,000	0,053	0,000	0,008
BNL3103	191	0,077	0,079	0,109	0,000	0,000
	193	0,077	0,184	0,152	0,000	0,080
	197	0,115	0,105	0,065	0,000	0,030
	199	0,462	0,579	0,304	0,935	0,010

	204	0,269	0,000	0,326	0,065	0,260
	206	0,000	0,053	0,022	0,000	0,620
	209	0,000	0,000	0,022	0,000	0,000
CIR311	171	0,824	0,950	0,628	0,968	0,893
	179	0,059	0,025	0,277	0,032	0,036
	188	0,118	0,025	0,096	0,000	0,071
CIR246	150	0,000	0,075	0,053	0,000	0,042
	158	0,059	0,100	0,000	0,000	0,063
	161	0,941	0,825	0,947	1,000	0,847
	172	0,000	0,000	0,000	0,000	0,049
CIR212	131	0,000	0,000	0,326	0,032	0,021
	140	0,971	0,975	0,533	0,968	0,972
	145	0,029	0,025	0,120	0,000	0,007
CIR148	141	0,118	0,050	0,202	0,081	0,022
	145	0,000	0,000	0,149	0,032	0,000
	146	0,000	0,000	0,000	0,000	0,036
	147	0,000	0,075	0,043	0,000	0,101
	151	0,882	0,875	0,606	0,887	0,841
CIR203	242	0,000	0,000	0,000	0,000	0,014
	245	0,147	0,075	0,000	0,000	0,042
	249	0,559	0,775	0,047	0,000	0,908
	250	0,294	0,100	0,000	0,000	0,035
	251	0,000	0,000	0,360	0,672	0,000
	255	0,000	0,000	0,384	0,310	0,000
	267	0,000	0,050	0,209	0,017	0,000
CIR249	192	0,706	0,850	0,564	0,967	0,819
	196	0,118	0,000	0,202	0,000	0,042
	198	0,000	0,100	0,021	0,033	0,028
	200	0,176	0,050	0,213	0,000	0,111