

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO/RS
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA
VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**MICROMALTEAÇÃO E MARCADORES
MOLECULARES COMO SUPORTE AO
MELHORAMENTO DE CEVADA CERVEJEIRA**

CLAUDIA TONIAZZO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração em Produção Vegetal.

Passo Fundo, março de 2014

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO/RS
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA
VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**MICROMALTEAÇÃO E MARCADORES
MOLECULARES COMO SUPORTE AO
MELHORAMENTO DE CEVADA CERVEJEIRA**

CLAUDIA TONIAZZO

**Orientador: Prof^ª. Dra. Sandra Patussi Brammer
Coorientador: Dr. Euclides Minella**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração em Produção Vegetal.

Passo Fundo, março de 2014.



A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação.

**"Micromaltação e marcadores moleculares como suporte ao
melhoramento de cevada cervejeira"**

Elaborada por
Claudia Toniazzo

Como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em
Agronomia – Produção Vegetal

Aprovada em: 31/03/2014
Pela Comissão Examinadora


Dra. Sandra Patussi Brammer
Presidente da Comissão Examinadora
Orientadora


Dra. Simone Meredith Scheffer Basso
Coord. Prog. Pós-Graduação em Agronomia


Dr. Euclides Minella
Embrapa Trigo
Coorientador


Dr. Hélio Carlos Rocha
Diretor FAMV


Dra. Magali Ferrari Grando
FAMV-UPF


Dr. Juliano Luiz de Almeida
Cooperativa Agrária Agroindustrial - PR

CIP – Catalogação na Publicação

T665m Toniazzo, Claudia
 Micromaltação e marcadores moleculares como suporte ao
 melhoramento de cevada cervejeira. / Claudia Toniazzo. – 2014.
 xi, 110 f. : il. ; 25 cm.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Passo
Fundo, 2014.

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Sandra Patussi Brammer.

Coorientador: Dr. Euclides Minella.

1. Cevada – Rio Grande do Sul. 2. Malte. 3. Plantas –
Melhoramento genético. 4. Cerveja. I. Brammer, Sandra Patussi,
orientadora. II. Minella, Euclides, coorientador. III. Título.

CDU: 633.16

Catalogação: Bibliotecária Marciéli de Oliveira - CRB 10/2113

BIOGRAFIA DO AUTOR

Claudia Toniazzo nasceu em 1º de agosto de 1987, na cidade de Getúlio Vargas, RS. Em 2011 concluiu o curso de Ciências Biológicas-LP pela Universidade de Passo Fundo/RS (UPF), Rio Grande do Sul. Em 2011 ingressou no Curso de Especialização em Biologia da Conservação, no Instituto de Ciências Biológicas da UPF, onde obteve o título de Especialista em Biologia da Conservação. Em 2012 ingressou no Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade de Passo Fundo/RS.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas dificuldades com que me presenteou, não fosse por elas, eu jamais conheceria o sabor dos desafios e conquistas.

À minha orientadora, Dra. Sandra Patussi Brammer, para quem não há palavras que traduzam minha profunda gratidão, pela sabedoria, apoio e conhecimentos que, generosamente, comigo compartilhou.

Ao Dr. Euclides Minella, pela sua orientação e ajuda para que este trabalho se realizasse.

A todos os amigos do Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Trigo, Jordalan Muniz, Valdirene Volpato, Andréa Morás, Marina Teixeira, Lucimere Morelo, Tiago Teixeira, Patrícia Palaoro, Laíssa Zimmermann, Jorge Gonzales Aguilera e estagiários, por todo auxílio, carisma e descontração que me trouxeram leveza aos dias complicados desta jornada.

Aos pesquisadores, Dr. Ricardo Lima de Castro, Dra. Paula Wiethölter, Dra. Andréia Caverzan, Dr. Juliano Luiz de Almeida, M. Vitor Antunes Monteiro e M. Noemir Antoniazzi, pelo auxílio e atenção prestados.

Aos amigos da casa-de-apoio e celeiro de materiais genéticos da Embrapa Trigo, e, em especial, ao amigo Ademir Vicari, por toda ajuda e dedicação na execução deste trabalho.

A todos os meus amigos, que estiveram sempre ao meu lado mesmo quando não pude dedicar o melhor de mim, e em especial, ao amigo Leonardo Simioni, pelo apoio emocional.

Ao meu amigo e noivo, Felipe Jung Reis, pelo amor, paciência e compreensão que a mim dedicou.

Às empresas Embrapa Trigo, Ambev e Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária, pela disponibilização de infraestrutura e recursos financeiros para que este trabalho se concretizasse.

À Universidade de Passo Fundo/RS, em especial, ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela disponibilidade da bolsa.

Meu infinito amor e gratidão aos meus queridos pais, Claudio e Loreni Toniazzo, que me deram, não só a vida, mas, também uma paixão inestimável pela mesma.

Finalmente, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	xi
RESUMO	12
ABSTRACT	12
1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 Histórico da cevada e descrição da espécie.....	18
2.2 Distribuição e importância econômica da cevada	23
2.2.1 No mundo.....	23
2.2.2 No Brasil.....	24
2.3 Processo de malteação e impactos no agronegócio da cevada.....	27
2.4 Variáveis de qualidade de malte utilizados neste estudo....	30
2.4.1 Extrato fino.....	31
2.4.2 Viscosidade.....	31
2.4.3 Teor de proteínas.....	31
2.4.4 Nitrogênio solúvel	32
2.4.5 Índice de Kolbach.....	32
2.4.6 β -glucanos	32
2.4.7 α -amilase.....	33
2.4.8 Poder diastático	33
2.4.9 FAN – Free amino nitrogen (amino nitrogênio livre)....	33
2.5 A interação genótipo x ambiente no melhoramento genético e o processo de malteação.....	34
2.6 Importância da diversidade genética no melhoramento de cevada cervejeira.....	36
2.7 Marcadores moleculares microssatélites como apoio ao melhoramento genético de cevada.....	38
3 MATERIAL E MÉTODOS	41
3.1 Material.....	41
3.2 Métodos.....	42
3.2.1 Semeadura dos genótipos e manutenção das plantas em campo.....	42
3.2.2 Micromalteação.....	43

3.2.3 Extração de DNA e marcadores moleculares microssatélites.....	44
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1 Micromalteação e interação genótipo x ambiente	47
4.2 Micromalteação, marcadores moleculares genômicos e diversidade genética.....	71
4.3 Micromalteação, marcadores moleculares associados a qualidade de malte e diversidade genética.....	79
5 CONCLUSÕES	87
REFERÊNCIAS	89
APÊNDICES	106

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Área, rendimento, oferta e demanda de cevada no mundo, safras 2011/12, 2012/13 e 2013/14. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014.....	24
2	Área, produção e rendimento de cevada no Brasil, por estado e total, safras 2011/12, 2012/13 e 2013/14. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014...	25
3	Quantidade exportada e importada de cevada em grão e malte, por origem, no período 2009 a 2012. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014.....	26
4	Cultivares/linhagens de cevada, e sua genealogia. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012.....	41
5	Local de cultivo das cultivares e linhagens de cevada, datas de semeadura e colheita, área e tipo de solo de cada região. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012.....	42
6	Variáveis de qualidade de malte e métodos de análises empregados. Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS – RS, 2013.....	44
7	Valor do teste F e coeficiente de variação das variáveis de malte considerando local, genótipo e local/genótipo. 2013 Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013.....	50
8	Médias obtidas de cada variável de qualidade para os genótipos de cevada cultivados em campo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013.....	52
9	Escores de classificação propostos quanto aos diferentes níveis de aceitação industrial para a malteação. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013.....	53
10	Análise de extrato fino a partir da micromalteação de genótipos por local de cultivo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013.....	54
11	Análise de viscosidade a partir da micromalteação de genótipos por local de cultivo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013.....	56

12	Teor de proteínas a partir da micromalteação de genótipos por local de cultivo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013.....	58
13	Análise de nitrogênio solúvel a partir da micromalteação de genótipos por local de cultivo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013.....	59
14	Análise de índice de Kolbach a partir da micromalteação de genótipos por local de cultivo. Embrapa Trigo, Passo Fundo– RS, 2013.....	61
15	Análise de β -glucanos a partir da micromalteação de genótipos por local de cultivo.. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013.....	62
16	Análise de α -amilase a partir da micromalteação de genótipos por local de cultivo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013.....	64
17	Análise de poder diastático a partir da micromalteação de genótipos por local de cultivo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013.....	65
18	Análise de FAN a partir da micromalteação de genótipos por local de cultivo. Embrapa Trigo, Passo Fundo– RS, 2013.....	67
19	Desempenho dos melhores locais e genótipos para os variáveis de qualidade de malte analisados. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013.....	70
20	Matriz de distância genética Euclidiana a partir dos variáveis de micromalteação índice de Kolbach, β -glucanos, α -amilase, e poder diastático nos genótipos de cevada. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014.....	73
21	Matriz de distância genética de Nei 72 para os marcadores moleculares microssatélites genômicos nos genótipos de cevada. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014.....	75
22	Distribuição dos genótipos através dos grupos formados no dendrogramas de micromalteação e no dendrograma de marcadores moleculares. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014.....	77

23	Matriz de distância genética de Nei 72 para os marcadores microssatélites associados à qualidade de malte nos genótipos de cevada. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014.....	81
24	Distribuição dos genótipos através dos grupos formados no dendrograma de micromalteação e no dendrograma de marcadores microssatélites para qualidade de malte. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014.....	83
25	Custo para a prestação de serviços de micromalteação e análises genéticas via marcadores moleculares. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014.....	86

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Estrutura do grão de cevada. Fonte: Fulcher et al. (1989).....	22
2	Ilustração de cevada de duas e seis fileiras: (1) cevada de duas fileiras, (2) cevada de seis fileiras, (a) visão superior, (b) visão frontal, (c) visão lateral. Fonte: Kunze (1999).....	23
3	Fluxograma do processo de maltagem. Fonte: Hough (1990).....	28
4	Precipitação pluvial e temperaturas médias nas diferentes regiões de produção de cevada no sul do Brasil. Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2013.....	48
5	Dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA baseado na distância Euclidiana para as variáveis de micromalteação: índice de Kolbach, β -glucanos, α -amilase, e poder diastático nos genótipos de cevada. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014.....	74
6	Dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA baseado na distância de Nei 72 para os marcadores microssatélites genômicos nos genótipos de cevada. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014.....	76
7	Dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA baseado na distância de Nei 72 para os marcadores microssatélites associados à qualidade de malte nos genótipos de cevada. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014.....	82

**MICROMALTEAÇÃO E MARCADORES MOLECULARES
COMO SUPORTE AO MELHORAMENTO DE CEVADA
CERVEJEIRA**

CLAUDIA TONIAZZO¹

RESUMO - O melhoramento genético, ao selecionar variedades mais produtivas, com qualidade industrial adequada, resistentes e tolerantes aos estresses bióticos e abióticos, respectivamente, e com melhor adaptação ecológica, possibilita aumentar os rendimentos agrícolas. No caso da cevada cervejeira, o melhoramento seleciona os melhores genótipos visando incorporar genes associados à qualidade de malte. Entretanto, este método estreita a variabilidade genética da espécie, o que pode ser crítico quando a seleção baseia-se somente no fenótipo analisado pela micromaltação. A utilização de marcadores moleculares, como auxílio na identificação da diversidade dos genótipos, se torna eficiente ferramenta aos programas de melhoramento que visam o mercado cervejeiro. Do mesmo modo, possibilitam a seleção de características de difícil avaliação, pois acessam diretamente o polimorfismo em nível do DNA. O objetivo deste trabalho foi analisar e determinar a distância genética entre 12 genótipos, pertencentes ao programa de melhoramento genético de cevada da Embrapa Trigo, com o intuito de orientar futuros cruzamentos que visam qualidade de malte. Para a realização do trabalho, foram coletadas sementes de cevadas cultivadas em 2012 em três locais do Rio Grande do Sul e quatro locais do Paraná. Os

¹ Bióloga, mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade de Passo Fundo/RS, Área de Produção Vegetal

serviços de micromalteação foram realizados no Laboratório VersuchsunLehranstalt fuer Brauerei (VLB, Alemanha) e pela INBEV (Estados Unidos). As variáveis foram: índice de Kolbach, β -glucanos, α -amilase e poder diastático. A análise molecular foi realizada por meio de 16 marcadores microssatélites, específicos para a cevada, em sistema de eletroforese horizontal e gel de agarose 3% e 4%. As características de micromalteação de todos os genótipos foram altamente influenciadas pelo ambiente para os diferentes locais. As cultivares BRS Brau, BRS Korbel apresentaram os melhores valores para qualidade de malte, sendo que Victor Graeff/RS foi o local que apresentou melhores condições ambientais para a expressão das variáveis. Este trabalho demonstrou que em 2012, as cultivares brasileiras apresentaram qualidade de malte superior à cultivar padrão internacional Scarlett. A partir da análise com os marcadores microssatélites e relacionando-se os dados genotípicos com os fenotípicos, os genótipos que se destacaram em qualidade de malte apareceram nos mesmos grupos quanto à diversidade genética. Entretanto, ao verificar o parentesco entre os genótipos e a diversidade genética dos materiais avaliados pelos microssatélites, foi identificado, pelas distâncias genéticas, a formação de mais grupos quando comparados com os resultados apenas de micromalteação. Portanto, o uso de marcadores moleculares demonstra maior especificidade dos dados, podendo ser utilizados de imediato nos programas de melhoramento genético da cevada cervejeira.

Palavras chave: *Hordeum vulgare*, qualidade de malte, melhoramento genético, diversidade genética, microssatélite.

MICROMALTING AND MOLECULAR MARKERS AS A SUPPORT TO THE IMPROVEMENT OF BARLEY BREWERY

ABSTRACT - The breeding to select more productive varieties with industrial quality adequate, resistant and tolerance to biotic and abiotic, respectively, and with better ecological adaptation stresses, helps to increase farm incomes. The case of the malting barley, improvement selects the best genotypes aiming at incorporating genes associated with quality malt. However, this method can narrow genetic variability, which can be critical when the selection is based solely on the phenotype examined by micromalteação. The use of molecular markers as an aid in identifying the diversity of genotypes, becomes a effective tool in breeding programs aimed at the beer market. In the same way enable the selection of characteristics difficult to be evaluated because directly access the polymorphism in the DNA level. The objective of this study was to analyze and determine the genetic distance among 12 genotypes belonging to the genetic improvement programme of barley at Embrapa Trigo, with the purpose to guide future crosses aimed at malt quality. To conduct the study, seeds of barley cultivated in 2012 were collected at three locations in Rio Grande do Sul and four locations on Paraná. Micromalting services were conducted at the Laboratory Versuchsund Lehranstalt fuer Brauerei (VLB, Germany) and InBev (United States). The variables were: index Kolbach, β -glucans, α -amylase and diastatic power. Molecular analysis was performed using 16 microsatellite markers specific for acevada in horizontal agarose electrophoresis gel

and 3% and 4% system. The characteristics of micromalting of all genotypes were highly influenced by the environment to the different locations. BRS Brau, BRS Korbel showed the best values for malt quality, and Victor Graeff/RS was the site that showed the best environmental conditions for the expression of the variables. This study showed that in 2012 the Brazilian cultivars showed superior malt quality of international standard cultivar Scarlett. From the analysis with microsatellite and linking up the genotypic data with phenotypic markers, genotypes who have excelled in malt quality appeared in the same groups as the genetic diversity. However, when examining the relationship between genotypes and genetic diversity of the materials evaluated by microsatellite genetic distances was identified by the formation of more groups, when compared with the results just micromalting. Therefore, the use of molecular markers demonstrates greater specificity of data and can be immediately used in breeding programs of malting barley.

Key words: *Hordeum vulgare*, malt quality, genetic breeding, genetic diversity, microsatellite.

1 INTRODUÇÃO

O processo de lançamento de uma cultivar de cevada cervejeira (*Hordeum vulgare* L.) é considerado mais complexo quando comparado com outros cereais, uma vez que além das etapas normais de melhoramento, as linhagens promissoras precisam ser submetidas a avaliações e análises da qualidade de malte e da aptidão organoléptica e sensorial para a produção de cerveja. Estas rigorosas avaliações são indispensáveis para que a indústria aprove a cultivar, uma vez que seu objetivo é a qualidade cervejeira do malte oferecido (CAIERÃO, 2008).

A qualidade cervejeira ou malteira da cevada é definida através do conjunto de variáveis associados que compõe as especificações demandadas pelas cervejarias. A importância do uso de marcadores moleculares na identificação de genes que conferem esta qualidade malteira vem crescendo em função de que este método representa uma ferramenta rápida e eficiente em um programa de melhoramento (SWANSTON & ELLIS, 2002; HEFFNER et al. 2009). Mundialmente, diferentes instituições e grupos de melhoramento de cevada cervejeira vêm testando e comprovando a eficiência destes marcadores moleculares.

Cultivares de cevada com características desejáveis para malte, ainda são desenvolvidas a partir do melhoramento convencional, por meio da hibridação artificial (cruzamentos entre linhagens e cultivares). Este método envolve a análise das características morfológicas e das características de malteação. A partir disso é possível identificar as melhores linhagens e inferir sobre

quais podem ser cruzadas para a obtenção de cultivares que propiciem malte de melhor qualidade (THOMAS, 2002).

Embora o Brasil venha conquistando espaço no mercado mundial de produção de cerveja, muito ainda há que se aprimorar na pesquisa da cevada para malteação. Neste contexto, Castro et al. (2013) abordam que é de suma importância tanto para o mercado, quanto para os programas de melhoramento, que novas estratégias sejam empregadas visando o desenvolvimento de cultivares que apresentem cada vez mais os padrões que a indústria exige para a produção de malte.

O presente projeto é fruto de uma parceria entre a Embrapa Trigo, Companhia de Bebidas das Américas (Ambev), Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária (FAPA), e Universidade de Passo Fundo (UPF), todas reconhecidas pela excelência em pesquisa e desenvolvimento. O trabalho teve como objetivo geral empreender o uso de marcadores moleculares do tipo microssatélites associados à diversidade, como suporte ao melhoramento genético de cevada. Os objetivos específicos foram os seguintes:

- Analisar os dados de micromalteação de genótipos de cevada oriundas de diferentes ambientes de cultivo em campo;
- Determinar a distância genética entre os genótipos de cevada, por meio de micromalteação e marcadores microssatélites genômicos desenvolvidos para esta cultura, com o intuito de orientar futuros cruzamentos que visam qualidade de malte.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico da cevada e descrição da espécie

A cevada (*Hordeum vulgare* L.) é uma das espécies mais estudadas quanto ao seu histórico e é a partir destes estudos que esta mostra a importância que teve para as civilizações em que foi cultivada ao longo dos tempos. Primeiramente, apareceu na pré-agricultura incipiente de alguns locais do sudoeste da Ásia (ZOHARY et al., 2012). Os registros iniciais que se tem do cultivo da cevada como agricultura propriamente dita datam do período neolítico ou 7000 a.C. (ZOHARY & FISCHER, 1973). Mais tarde, em 1986, Josef & Kislev registraram dados de cevada para 8260 a 7800 a.C. Ambos dados são originários do Oriente Médio, onde hoje se localizam Israel, Jordânia e Síria. (CAIERÃO, 2008). Por ser uma cultura tolerante a baixas e altas temperaturas e baixa umidade relativa do ar, é cultivada atualmente desde o México, Andes, África até o Tibete. Porém, sua maior produção se concentra na região do Mediterrâneo, Etiópia, Rússia, China, Índia, Canadá, Estados Unidos e Austrália (NEVO, 2012). Na América, os registros mostram que a cevada foi trazida em janeiro de 1494, na segunda expedição de Cristóvão Colombo. No entanto, há indícios de que o fato tenha ocorrido já na primeira expedição, em 1492 quando os navios distribuíam sementes na costa para colher no caminho de volta das longas viagens de navio. Após estes primeiros cultivos, a cevada teve sua área de produção significativamente ampliada no Brasil com a chegada dos imigrantes europeus no final do século XIX (ÁRIAS, 1995).

No Rio Grande do Sul a cultura foi estabelecida por Hildebrand em colônias alemãs somente em 1854 (ÁRIAS, 1995), e as primeiras pesquisas e ensaios de melhoramento no Brasil iniciaram em 1920 pelo agrônomo austríaco Carlos Gayer, em Veranópolis/RS (CAIERÃO, 2008).

A cevada pertence à tribo Triticeae, família Poaceae e teve origem após o período Cretáceo (PRASAD et al., 2005). O gênero *Hordeum* divergiu do gênero *Triticum* há, aproximadamente, 13 milhões de anos (GAUT, 2002) e hoje é composto por 32 espécies (BOTHMER et al., 1995).

A espécie *H. vulgare* é a única cultivada do gênero e apresenta três subespécies classificadas como *H. vulgare* ssp. *vulgare*, *H. vulgare* ssp. *distichum* e *H. vulgare* ssp. *spontaneum* (MOLINA-CANO, 1989). E teve como progenitora a espécie *H. spontaneum* (HARLAN & ZOHARY, 1966).

H. vulgare caracteriza-se por ser diplóide ($2n=2x=14$). Porém com o uso de técnicas artificiais foi possível a obtenção da cevada tetraploide ($2n=2x=28$). No entanto, a cevada tetraploide não apresenta interesse prático, uma vez que este material possui diversos problemas de fertilidade (MOLINA-CANO, 1989).

O genoma da cevada é de 5,3 bilhões de pares de bases e o número atual de genes é de 5.1 Gb (HAYES et al., 2003; THE INTERNATIONAL BARLEY GENOME SEQUENCING CONSORTIUM, 2012), o que permite grande exploração gênica se comparado com outras espécies. Neste contexto, estudos apontam que houve 65 milhões de anos de divergência na evolução do genoma das poaceas, fazendo com que existam diferenças importantes no

tamanho, nível de ploidia e número de cromossomos. A família Poaceae inclui culturas importantes, como o arroz (*Oryza sativa* L.), o trigo (*Triticum aestivum* L.), o milho (*Zea mays* L.) e a cevada. Dentre estes, o arroz tem o menor genoma (415 Kb). O genoma do milho é seis vezes maior do que o de arroz, a cevada é cerca de doze vezes maior que o arroz, enquanto que o trigo hexaploide é cerca de três vezes maior que o genoma da cevada. No entanto, quando se compara genômicamente as poaceas, estas apresentam conservação notável de genes marcadores e revelam alta colinearidade (DEVOS & GALE, 2000).

A cevada tem sua reprodução por autofecundação, com deiscência da antera ocorrendo antes da abertura da flor, normalmente antes da emergência da espiga e sua taxa de fecundação cruzada é inferior a 1%. Frequentemente a extrusão da espiga de cevada com seis fileiras emerge antes se comparada com a extrusão da espiga de duas fileiras (MOLINA-CANO et al., 1997).

O gênero *Hordeum* se caracteriza por possuir três espiguetas uniflorais, provida de ráquila unida ao grão. A espiguetas central é fértil, enquanto que as espiguetas laterais são estéreis. As espiguetas possuem individualmente estruturas de proteção, o lema e a pálea, onde o lema pode apresentar arista ou ser mútico (CAIERÃO, 2008; MINELLA, 1999).

A parte da cevada da qual se tem interesse para o mercado cervejeiro é o grão, que é constituído de embrião, endosperma, aleurona e pericarpo (Figura 1). Pelo processo de malteação, o amido do grão é degradado pela ação de enzimas e transformado em extrato.

A aleurona é uma camada fina de células que envolve o endosperma. Ela é responsável pelo transporte de hormônios para o interior do endosperma e também por sintetizar enzimas hidrolíticas como a α -amilase, β -glucanase, β -amilases, dentre outras. A casca, por sua vez, é constituída basicamente por celulose que é insolúvel em água. Esta estrutura é que torna a cevada preferida para a produção de malte, uma vez que a mesma se mantém durante o processo, protegendo o folículo durante a germinação, e assim permitindo a completa modificação do endosperma pela ação das enzimas. Também o alto índice de amido no grão, sabor e aroma fazem com que a cevada seja o grão mais utilizado para a produção de malte (KUNZE, 2006).

Outro aspecto importante diz respeito ao aproveitamento da cevada que deve ser classificada como cevada cervejeira ou cevada forrageira, ambas com distintos usos. A cevada cervejeira é aquela que apresenta padrão de qualidade para a produção de malte. Já a cevada forrageira é aquela que não cumpre os padrões de qualidade, e assim, é destinada à alimentação animal (ZSCHOERPER, 2009).

A cevada possui também classificação quanto ao posicionamento na espiga, que pode ser de seis ou de duas fileiras (Figura 2). A cevada de seis fileiras (*H. hexastichum*) apresenta em cada nó, seis flores que darão origem a seis fileiras na espiga. Comumente esta cevada se caracteriza por apresentar grãos de tamanho irregular e baixa qualidade para malteação (TSCHOPE, 1999).

A cevada de duas fileiras se caracteriza por apresentar fecundação somente nas duas flores centrais, resultando em grãos

mais simétricos, maiores e com boa capacidade de malteação (KUNZE, 1999).

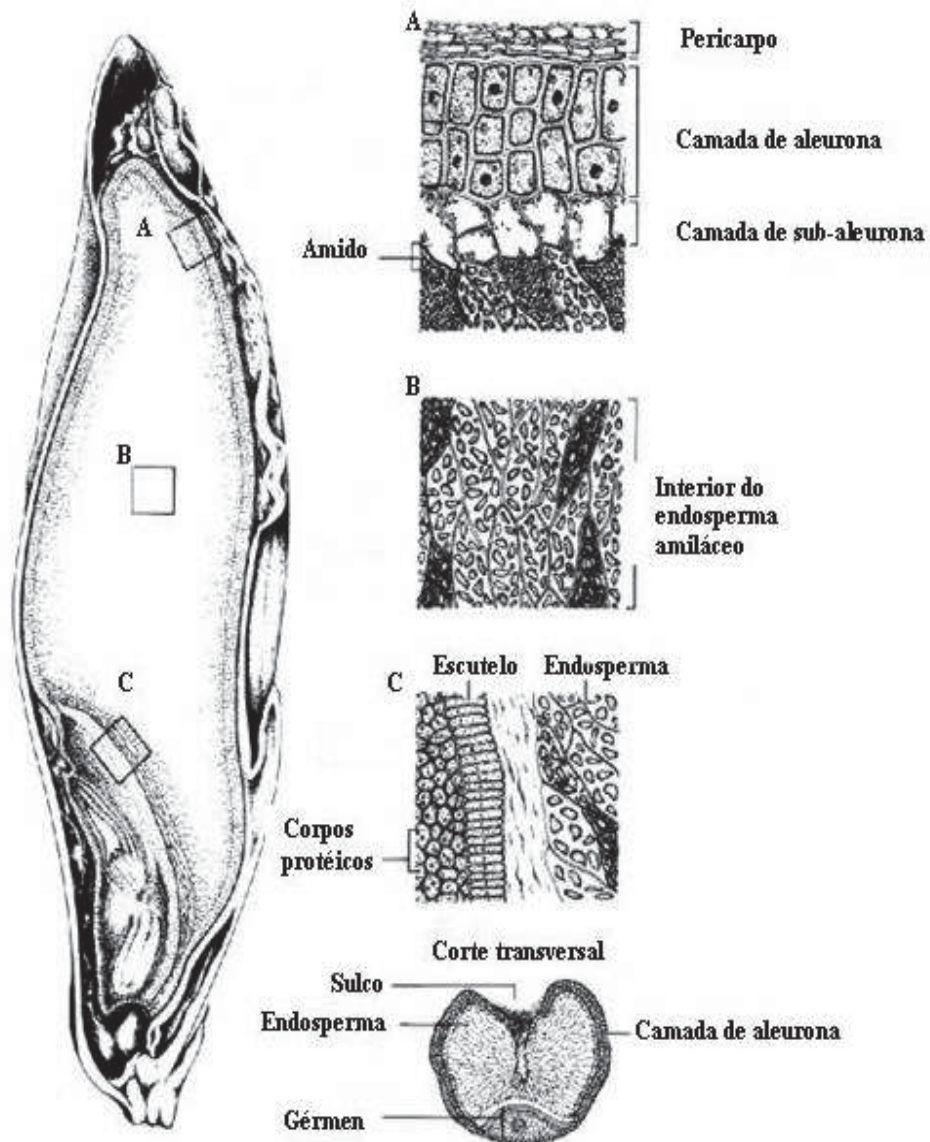


Figura 1 - Estrutura do grão de cevada. Fonte: Fulcher et al. (1989).

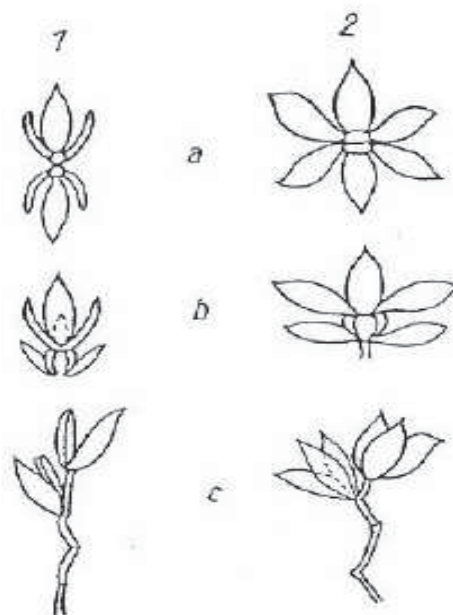


Figura 2 - Ilustração de cevada de duas e seis fileiras: (1) cevada de duas fileiras, (2) cevada de seis fileiras, (a) visão superior, (b) visão frontal, (c) visão lateral. Fonte: Kunze (1999).

2.2 Distribuição e importância econômica da cevada

2.2.1 No mundo

Segundo Minella (2014), a cevada é hoje o cereal que ocupa a quinta posição em ordem de importância econômica no mundo. Sua produção se concentra na Europa, Ásia e América do Norte, porém também é cultivada no Sul do Brasil, Argentina, Uruguai e Austrália (CAIERÃO, 2008).

Por ter uma ampla adaptação ecológica, a cevada se mantém entre os grãos mais produzidos ao longo dos séculos (POEHLMAN, 1985). É amplamente utilizada para a produção de

bebidas como a cerveja e o uísque, na composição de farinha para a panificação, como sucedâneos de café e na composição de produtos dietéticos (EMBRAPA TRIGO, 2014a).

Mais de 90% da produção de cevada é destinada à alimentação animal, sendo que somente 5% se destinam a produção de malte e outros 5% a produção de sementes. Atualmente a área mundial cultivada é de pouco mais de 50 milhões de hectares (Tabela 1) (EMBRAPA TRIGO, 2014a).

Tabela 1 - Área, rendimento, oferta e demanda de cevada no mundo, safras 2011/12, 2012/13 e 2013/14. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014

Item	2011/12	2012/13	2013/14
Área colhida (milhões ha)	49,56	50,56	50,56
Rendimento (kg/ha)	2.711	2.558	2.786
Produção (milhões de t)	134,34	129,34	141,70
Estoque inicial (milhões de t)	24,13	22,70	19,75
Importação (milhões de t)	20,59	19,20	18,31
Exportação (milhões de t)	20,37	18,98	19,28
Consumo Total (milhões de t)	136,00	132,51	138,06
Estoque final (milhões de t)	22,70	19,75	22,42
Relação estoque/consumo (%)	16,69	14,90	16,24

Fonte adaptada de: Embrapa Trigo (2014b).

2.2.2 No Brasil

No Brasil, a cevada vem sendo cultivada comercialmente desde 1930 e seu cultivo sempre objetivou a produção de grãos destinados à produção malteira (MINELLA, 2013). A realidade para o consumo de cevada para malte no Brasil é muito diferente quando comparada em nível mundial. Geralmente, somente

quando a qualidade do produto não atender as especificações exigidas para a produção de malte, é que será destinada a nutrição animal (CAIERÃO, 2008).

A produção se concentra mais nos estados do Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina, havendo registros de produção também em menor escala para os estados de Goiás e Minas Gerais. A média de área cultivada no Brasil é de 103 mil hectares, aproximadamente 362 mil toneladas (Tabela 2) (EMBRAPA TRIGO, 2014b).

Tabela 2 - Área, produção e rendimento de cevada no Brasil, por estado e total, safras 2011/12, 2012/13 e 2013/14. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014

Estado	Área colhida (mil ha)			Produção (mil t)			Rendimento (kg/ha)		
	2011/ 12	2012/ 13	2013/ 14	2011/ 12	2012/ 13	2013/ 14	2011/ 12	2012/ 13	2013/ 14
PR	51,2	50,8	43,6	195,6	182,8	181,6	3.820	3.598	4.165
SC	3,2	5,7	1,8	10,6	17,1	6,1	3.313	3.000	3.389
RS	34,0	46,3	57,4	98,9	87,3	173,6	2.909	1.886	3.024
Total	88,4	102,8	102,8	305,1	287,2	361,3	3.451	2.794	3.515

Fonte adaptada de: Embrapa Trigo (2014b).

O Brasil produz somente 30% da demanda das maltarias aqui instaladas (MINELLA, 2014). O restante desta produção precisa ser complementado com importações da Argentina e Europa (Tabela 3).

Tabela 3 - Quantidade exportada e importada de cevada grão e malte, por origem, no período 2010 a 2013. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014

Item/origem/ destino	2010	2011	2012	2013
Exportação (mil toneladas)				
Cevada	0,220	0,138	-	25,75
Jordânia		0,039	-	25,75
Portugal	0,014	0,012	-	-
Espanha	0,046	0,012	-	-
Suriname	0,056	0,011	-	-
Angola	0,038	0,002	-	0,00
Malte	-	-	0,01	1,17
Paraguai	-	0,04	-	1,17
Importação (mil toneladas)				
Cevada	295,80	320,16	229,65	368,45
Argentina	191,30	304,39	229,65	325,54
Alemanha	-	15,77	-	-
França	104,50	-	-	42,92
Malte	845,20	805,88	811,22	817,27
Argentina	368,04	309,21	346,68	373,09
Uruguai	253,37	291,06	275,93	267,18
Bélgica	92,52	71,26	117,11	107,59
França	96,56	109,67	56,84	43,13
Alemanha	22,61	20,21	11,09	12,52

Fonte adaptada de: Embrapa Trigo (2014b).

Atualmente, existem três maltarias no Brasil instaladas nos estados do Rio Grande do Sul, Paraná e São Paulo (EMBRAPA TRIGO, 2014a). Toda a produção nacional de cevada é realizada sob contrato firmado com as maltarias ou cooperativas, onde constam cláusulas sobre qual cultivar será plantada, previsão de volume a ser produzido, padrões de qualidade na entrega do grão e preço do produto recebido. Este contrato confere à cevada, liquidez de mercado (MINELLA, 1999).

O setor cervejeiro é responsável por empregar 1,7 milhão de pessoas, investindo R\$ 16 bilhões em salários, recolhendo em média R\$ 19 bilhões em tributos e é responsável por 1,7% do PIB. Esta cadeia produtiva mobiliza cerca de 12 mil fornecedores e mais de 8 milhões de profissionais, envolvidos nas mais diversas áreas (CERVBRASIL, 2014).

2.3 Processos de malteação e impactos no agronegócio da cevada

Os primeiros produtores de malte teriam seguido uma abordagem científica de seleção de grão para malte muito semelhante às técnicas convencionais usadas ainda hoje (MACLEOD, 1977).

A malteação tem como objetivo promover alterações básicas no metabolismo que abrangem a chamada “solubilização do grão”, ocasionando a decomposição de amido e das proteínas. Este processo induz a formação e ativação de enzimas preexistentes, transforma substâncias de alto peso molecular em subprodutos de médio e baixo peso molecular e forma os componentes característicos de aroma, cor e paladar (KUNZE, 2006).

No processo de maceração, o embrião e a casca absorvem água de forma mais rápida que o endosperma, tornando a maceração uma das etapas mais crítica no processo de malteação, uma vez que para a obtenção de um malte homogêneo se faz necessária igual uniformidade de umidade através do grão. A percentagem de água no grão é mantida entre 11 a 13% durante o armazenamento, com o objetivo de reduzir os níveis de respiração (KUNZE, 2006).

Durante o processo de germinação ocorre o desdobramento das paredes das células de amido e o enriquecimento enzimático, sendo que este objetivo deve ser obtido com o mínimo de perda das substâncias de reserva. Para uma boa germinação, há que se levar em consideração fatores como a temperatura do grão (entre 12 a 26 °C), umidade (42 a 48%), tempo de germinação, aeração e aditivos usados. São estes fatores que vão influenciar a ação enzimática, interferindo diretamente na modificação do malte (DAL RI et al., 1995).

Após a germinação, o grão germinado é chamado de “malte verde” e este sofre o processo de secagem através da diferença de teor de umidade entre o grão e o ar utilizado no processo (Figura 3). O principal objetivo deste processo é de encerrar os processos químico-biológicos que trarão paladar, aroma e cor característica ao malte. Um destes procedimentos consiste em retirar as radículas dos grãos que são responsáveis pelo amargor indesejável da cerveja (DAL RI et al., 1955; KUNZE, 2006).



Figura 3 - Fluxograma do processo de maltagem. Fonte: Hough (1990).

O melhor modo para avaliar uma cultivar de cevada quanto à qualidade de malte é submetê-la ao processo de malteação e analisar itens importantes para o processo industrial, como teor de β -glucanos, viscosidade, dentre outros.

Nos últimos anos tem-se concentrado um grande interesse na enzima endo-(1,3)(1,4)- β -glucanase (mais conhecida como β -glucanase). Esta enzima é sintetizada a partir de sinais de hormônios compostos por ácido giberélico que o embrião envia para a camada de aleurona. Após este processo, a enzima é transportada até o endosperma (MCFADDEN et al., 1988). Para a dissolução proteica e formação de enzimas amilolíticas ocorre a hidrólise das paredes celulares, que é um processo que ocorre progressivamente a partir do embrião em direção à extremidade distal (ASPEGREN et al., 1995).

A enzima responsável pela ruptura das paredes celulares do endosperma amiláceo é a (1-3,1-4)- β -glucanase, que permite o acesso da enzima α -amilase e outras proteases aos respectivos substratos do endosperma, sendo responsáveis pela quebra do amido em maltose. As (1-3,1-4)- β -glucanases hidrolisam os (1-3,1-4)- β -glucanos – um polímero linear de glicose ligado por pontes β -(1-4) e β -(1-3), o principal componente das paredes da célula do endosperma da cevada. Elas agem especificamente sobre as ligações β -(1-4), mas somente se houver um resíduo (1-3)- β -glicosil não reduzido na extremidade do substrato (WOODWARD & FINCHER, 1982).

A degradação completa e eficiente das paredes celulares do endosperma é crucial para a difusão das enzimas de germinação e mobilização de reservas que garantem a qualidade do malte (AHOKAS & NASKALI, 1990). A atividade das enzimas na

germinação da cevada é controlada pelo genótipo e pelas condições ambientais (MORGAN et al., 1983; STUART et al., 1988).

Entretanto, estas mesmas enzimas tão importantes para o processo de malteação, também podem ser prejudiciais à qualidade do mesmo, como é o caso das β -glucanases que em grandes quantidades podem aumentar a viscosidade do mosto e assim comprometer a transparência do produto final. Algumas pesquisas tem comprovado por meio da engenharia genética, que é possível aumentar a hidrólise de β -glucanos pela quantidade das enzimas ou pela termo estabilidade das mesmas (AHOKAS & NASKALI, 1990).

2.4 Parâmetros de qualidade de malte utilizados como variáveis neste estudo

A definição da qualidade cervejeira da cevada é dada através da interação de um conjunto de parâmetros demandados pelas cervejarias. Estes variáveis avaliam a estabilidade coloidal (proteínas e nitrogênio solúvel), capacidade de degradação do malte (β -glucanos), rendimento na fabricação de cerveja (extrato), atividade enzimática (poder diastático), dentre outros (KUNZE, 2006).

Para padronizar estes parâmetros, foram desenvolvidos métodos analíticos oficiais tais como EBC (European Brewery Convention), ASBC (American Society of Brewery Chemist), IOB (Institute of Brewing) e MEBAK (Middle European Brewery Analysis Commission) (ZSCHOERPER 2009; KUNZE 1999). Um malte de boa qualidade deve apresentar um balanço equilibrado entre as

variáveis avaliadas. A seguir, destacam-se as principais análises realizadas para qualidade de malte.

2.4.1 Extrato fino

Essa análise representa o máximo de extrato que se pode obter do malte quando moído finamente (teor de extrato moagem fina), determinando o potencial do malte em fornecer açúcares fermentáveis e compostos de nitrogênio (POLLOCK, 1962). Esta análise cumpre um papel importante no desenvolvimento do aroma e estabilidade do produto final (HOUGH, 1990). Neste contexto, quanto maior o valor do extrato, melhor é o malte (KUNZE, 1999). O valor padrão para esta análise é $\geq 80\%$ dm (EBC, 1987).

2.4.2 Viscosidade

A análise da viscosidade mede a degradação dos β -glucanos durante a maltagem. Sendo os β -glucanos substâncias gomosas, é importante que sua degradação seja eficiente para não dificultar o processo de filtragem (TSCHOPE, 1999). O valor padrão para esta análise é de 1,50 a 1,60 mPa*s (EBC, 1987).

2.4.3 Teor de proteínas

As proteínas dão origem a nutrientes que suprem a fermentação, bem como fornecem estabilidade para a espuma, representando uma variável que impacta diretamente na qualidade

final da cerveja (KUNZE et al., 1999). O valor padrão para esta análise é de 10 a 12% dm (EBC, 1987).

2.4.4 Nitrogênio solúvel

A análise quantifica o nitrogênio que foi solubilizado no processo de mosturação (TSCHOPE, 1999). Valores baixos de nitrogênio solúvel podem acarretar problemas de fermentação da nutrição das leveduras, formando cervejas com problemas na espuma, ao mesmo passo que valores altos desta medida podem causar problemas de estabilidade coloidal na cerveja e baixo rendimento na fabricação (ZSCHOERPER, 2009). O valor padrão para esta análise é de 650 a 850 mg/100 g dm (EBC, 1987).

2.4.5 Índice de Kolbach

O índice de Kolbach representa quanto do nitrogênio total presente no malte foi dissolvido no mosto, ou seja, indica a porcentagem de desbloqueio (modificação) do endosperma pelas enzimas (KUNZE, 1999). É uma indicação do quanto as proteínas do malte foram hidrolisadas pelas enzimas proteolíticas (ZSCHOERPER, 2009). O valor padrão para esta análise é de 38 a 44% (EBC, 1987).

2.4.6 β -glucanos

Determina-se o total de β -glucanos no mosto, pois este está relacionado diretamente com a viscosidade do mesmo e a

possíveis problemas nas etapas de filtração no processo de produção da cerveja (AASTRUP & ERDAL 1980). O valor padrão para esta análise é < 200 ppm mg/L (EBC, 1987).

2.4.7 α -amilase

A α -amilase hidrolisa de forma aleatória o amido reduzindo-o a cadeias menores, fazendo assim com que diminua a viscosidade. Sua atividade é medida pelo tempo necessário para quebrar o amido. A atividade da α -amilase é expressa em unidades dextrinases (DU) (THE BREWER INTERNATIONAL, 2002). O valor padrão para esta análise é ≥ 45 DU (EBC, 1987).

2.4.8 Poder diastático

Esta variável avalia o potencial de degradação das enzimas α -amilase e β -amilase sobre o amido (BAMFORTH & BARCLAY et al., 1993). Valores baixos nesta análise podem indicar dificuldades na etapa de brasagem da cervejaria e valores muito elevados podem influenciar o grau de fermentação (ZSCHOERPER, 2009). O valor padrão para esta análise é ≥ 220 WK (unidade Windisch-Kohlbach) (ASBC, 1958).

2.4.9 FAN – Free amino nitrogen (amino nitrogênio livre)

A variável FAN é também conhecido como análise de nitrogênio livre. De acordo com Kunze (1999) e Tschope (1999), o

FAN representa a parcela nitrogenada de baixo peso molecular, na qual estão inseridos todos os aminoácidos do mosto que podem ser assimilados pelas leveduras durante o processo de fermentação da cerveja para permitir a multiplicação das mesmas (ZSCHOERPER, 2009). O valor padrão para esta análise é ≥ 160 mg/L (ASBC, 1958).

2.5 A interação genótipo x ambiente no melhoramento genético e o processo de malteação

Ambiente caracteriza-se por uma série de condições sob as quais organismos e plantas crescem, sendo influenciado por um conjunto de fatores como local, condições edafoclimáticas, época, práticas culturais e outras variáveis que afetam o desenvolvimento das plantas (BORÉM, 2001). Assim, o ambiente é constituído de todos os fatores que afetam o desenvolvimento das plantas que não de origem genética (BORÉM, 1998).

Segundo Ramalho et al. (1989), fenótipo corresponde às formas alternativas de expressão de uma característica, sendo dependente do genótipo e do ambiente. Pode ser observado a níveis físico, morfológico, anatômico e/ou bioquímico. Segundo Hill (1975), os processos bioquímicos que determinam a forma e a função das plantas, ou seja, seu fenótipo, é resultado de informações codificadas na sequência de DNA e na interação destas com o ambiente.

Os programas de melhoramento genético geralmente cumprem pelo menos três etapas: seleção dos indivíduos que serão cruzados, cuja descendência formará a população-base, seleção dos

indivíduos com melhor desempenho, resultantes do cruzamento entre os parentais, e avaliação das progênies em diversos ambientes para analisar a interação com o genótipo (CARGNIN et al., 2006).

A interação genótipo x ambiente tem sido um grande desafio para os melhoristas, pois o comportamento diferencial dos genótipos, frente às variações ambientais, acarreta oscilações e dificulta a geração de cultivares com ampla adaptabilidade. Com isso é possível que o melhor genótipo em um ambiente não o seja o melhor em outro (HILL, 1975; FALCONER, 1981). A interação genótipo x ambiente é muito importante para geneticistas e melhoristas uma vez que os componentes desta interação fornecem informações sobre a adaptação de uma dada cultivar em determinada região (MEREDITH, 1984).

As características genéticas a serem melhoradas em um genótipo agrícola, podem ser qualitativas ou quantitativas. Os caracteres qualitativos são governados por um ou poucos genes, enquanto que os caracteres de herança quantitativa são poligênicos e a expressão de suas características geralmente sofre forte influência ambiental, dificultando a identificação dos genótipos com base apenas no fenótipo observado (RAMALHO et al., 2004).

A herança quantitativa frequentemente é identificada pela sigla "QTL" do inglês *Quantitative Trait Loci* ou locos de características quantitativas. Os QTLs em cevada que determinam fenótipos quantitativos como a qualidade de malteação apresentam desafios para os melhoristas de plantas, por envolver uma caracterização complexa e sistemática (HAYES et al., 2003).

Portanto, grande parte do estudo das características envolvidas com aspectos agronômicos e qualidade de malte é direcionada para a determinação do efeito do genótipo e do ambiente para a característica final que se observa. A interação e suas implicações no melhoramento de plantas não representam meramente simples efeitos estatísticos, devem ser observadas como um fenômeno biológico e genético, que envolve a regulação de genes, modulados pelos fatores externos (BOROWSKI, 2012).

Neste contexto, torna-se importante analisar a proporção da variação fenotípica que corresponde ao ambiente e a variação correspondente ao genótipo para poder estimar com melhor precisão a resposta dos genótipos nos ambientes testados (MAIA & ROCHA 2007).

2.6 Importância da diversidade genética no melhoramento de cevada cervejeira

O uso eficiente de germoplasma de cevada disponível depende basicamente de sua caracterização que permite apurar o potencial de cada genótipo, garantindo o sucesso na obtenção de cultivares em um programa de melhoramento (MOREIRA et al., 1994; VALOIS, 1998). Neste contexto, o progresso genético em um programa de melhoramento é dependente da diversidade genética disponível (POEHLMAN & SLEPER, 1995). Esta diversidade expressa a diferença entre as frequências alélicas nos genótipos.

Caracterizar e avaliar a diversidade é fundamental para a organização do germoplasma, identificação de genitores e seleção de cultivares (MOHAMMADI & PRASANNA, 2003). Estudos indicam que a variabilidade existente no germoplasma mundial propicia avanços no melhoramento da cevada, por ser suficientemente abrangente (FOSTER, 1987; ÁRIAS, 1995; MINELLA & SORRELS, 1997). Porém, a cevada cervejeira oferece o desafio de se trabalhar com uma base genética estreita, que busca a obtenção de combinações gênicas com a menor divergência possível, uma vez que as características de qualidade de malte podem ser prejudicadas pela alta variabilidade (WYCH & RASMUSSEN, 1983; HAYES et al., 2003).

A determinação da distância genética entre os genótipos pode ser medida com o uso de marcadores moleculares, bem como em análises multivariadas, podendo ser usadas outras características como dados de micromalteação com a mesma finalidade (STAUB et al., 1996; AMARAL JÚNIOR, 1999). Como a qualidade de malte é uma característica condicionada por vários genes (quantitativos), demanda conhecimento mais aprofundado dos componentes de sua variância genética (RESENDE & DUARTE, 2007).

Dentre as ferramentas estatísticas para definir a diferença entre os genótipos a partir da variação alélica destaca-se a distância Euclidiana, que oferece ao melhorista informações mais objetivas sobre os genótipos em estudo (RAO, 1952; SUDRÉ et al., 2005).

Os estudos de diversidade genética como apoio ao melhoramento de cevada, buscando a qualidade para malteação, são escassos no Brasil, portanto a utilização de marcadores moleculares pode amenizar as dificuldades na seleção de linhagens próximas, uma

vez que estas análises possibilitam a detecção de mínimas diferenças no genoma.

2.7 Marcadores moleculares microssatélites como apoio ao melhoramento genético da cevada

O melhoramento genético, ao selecionar variedades mais produtivas, com melhor qualidade industrial, mais tolerantes a estresses e com melhor adaptação ecológica, possibilita aumentar os rendimentos agrícolas e até mesmo reduzir o uso de insumos pelo agricultor, o que ajuda a preservar a saúde humana e o meio ambiente. Porém, alguns caracteres agrônômicos, especialmente os de herança quantitativa, apresentam dificuldades na seleção fenotípica, tanto na escolha dos pais como na seleção em populações segregantes. A biologia molecular disponibiliza ferramentas que podem reduzir essas dificuldades (BRAMMER, 2003).

Historicamente, a bioquímica e a genética da qualidade de malte têm sido áreas paralelas de estudo. O anterior centrou-se na caracterização sistemática da deposição e hidrólise de amido e proteínas. Porém, as pesquisas bioquímicas proporcionaram uma compreensão mais abrangente dos processos subjacentes, mas não fornecem aos melhoristas dados suficientes para melhorar a qualidade de malte (HAYES et al., 2003).

Atualmente, os métodos de criação de novas cultivares tem se voltado muito para o ramo da biotecnologia, que abrange mapeamento genômico, marcadores moleculares, biologia celular, cultura de tecidos e engenharia genética. Estas técnicas

biotecnológicas contribuem para o desenvolvimento de cultivares adaptadas a diferentes condições, bem como possibilita identificar genes de qualidade em produtos do melhoramento convencional, tornando o processo mais rápido e eficiente (BORÉM et al., 2008). Além do mencionado, também possibilita o aperfeiçoamento de características morfológicas, dentre outros fatores de impacto econômico, nutricional e social (SAVIO & AGUINADA, 2011).

Uma das principais vantagens da tecnologia de marcação molecular é possibilitar a observação a nível genotípico bem como mudanças que ocorreram no pool gênico na cevada e comparar essas mudanças com diferenças fenotípicas (SWANSTON & ELLIS, 2002).

Os marcadores moleculares têm desempenhado um papel importante na compreensão da base genética de características economicamente importantes em cevada. Na última década, mapas genéticos foram construídos para os sete cromossomos de cevada, e esses têm sido utilizados na análise de QTLs. Além disso, o uso de marcadores moleculares é importante para a seleção assistida, com a qual é possível identificar marcadores ligados a características comercialmente importantes como qualidade de malteação, resistência a doenças e resposta a estresses bióticos em um espaço de tempo mais curto em relação às técnicas de observação convencional (HEARNDEN et al., 2007; EMEBIRI et al., 2009).

Os marcadores microssatélites, denominados também por SSR (Simple Sequence Repeats), são sequências de um a quatro pares de bases repetidas e adjacentes, distribuídas no genoma. Esse tipo de marcador utiliza *primers* específicos que amplificam regiões com DNA repetitivo. São comumente usados em estudos de diversidade

genética e mapas genéticos para programas de melhoramento, por serem abundantes no genoma, multialélicos, altamente informativos e facilmente detectáveis (ZHANG & LI, 2010). O elevado polimorfismo revelado o torna uma das melhores opções para uso na caracterização de cultivares, especialmente em germoplasma aparentado e de baixa variabilidade.

De acordo com Freitas & Bered (2003), os marcadores microssatélites destacam-se por: possuir expressão codominante; são hipervariáveis no que diz respeito ao número de alelos por locus e, por isso, têm se tornado uma fonte importante de marcadores genéticos polimórficos; são muito frequentes e distribuídos ao acaso ao longo de todo o genoma e a existência de conservação de sítios de microssatélites entre espécies relacionadas torna possível, em alguns casos, a utilização de iniciadores obtidos em uma espécie para outras espécies afins (iniciadores heterólogos). Contudo, há limitações nas análises de microssatélites, como: necessidade do desenvolvimento de iniciadores (*primers*) para cada espécie (ou grupos de espécies relacionadas), o que implica no sequenciamento prévio de partes específicas do DNA e não se conhece o papel funcional das sequências estudadas.

Dentre as inúmeras vantagens no uso de marcadores moleculares ressalta-se a possibilidade de fazer mapeamento genético dos genes que expressam características quantitativas, e/ou de importância econômica, predição de fenótipos esperados e seleção indireta de características de difícil avaliação (BECKMANN, 1991).

O uso de marcadores moleculares possibilita acessar diretamente o polimorfismo genético para o desenvolvimento de

novos genótipos, permitindo a evolução de plantas de interesse de forma rápida e com importantes ganhos genéticos (FEDERIZZI, 1998). Marcadores com a função de identificar diretamente a qualidade cervejeira já foram estudados e validados, porém suas sequências e informações são de acesso restrito aos consórcios que os desenvolveram.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

No presente estudo foram avaliadas oito cultivares e quatro linhagens de cevada (Tabela 4), pertencentes ao ensaio de Valor de Cultivo e Uso de 3º ano (VCU3) do Programa de Melhoramento Genético de Cevada da Embrapa Trigo.

Tabela 4 - Cultivares/linhagens de cevada, e sua genealogia. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012

Genótipos	Genealogia	Obtentor
BRS Brau	MN698/3/BRS 195//Schooner/Embrapa129	Embrapa Trigo
BRS Cauê	BRS Borema/BRS 195	Embrapa Trigo
BRS Elis	BRS 195/Scarlett	Embrapa Trigo
MN 610	PFC 85104/PFC 85106	Ambev
MN 743	MN 681/Gimpel	Ambev
MN 6021	Dominique/Quilmes Ayelen	Ambev
Scarlett	Amazone/Br.2730e//Kym	Ackermann
PFC 2007020	PFC 2002025/Prestige	Embrapa Trigo
PFC 2007052	BRS Lagoa/BRS Elis	Embrapa Trigo
PFC 2007057	BRS 195/Barke	Embrapa Trigo
PFC 2007103	PFC 200043/Barke	Embrapa Trigo
BRS Korbel	BRS Sampa/Danuta	Embrapa Trigo

3.2 Métodos

3.2.1 Semeadura dos genótipos e manutenção das plantas no campo

O experimento no campo foi conduzido no ano de 2012, em três locais do Rio Grande do Sul e quatro locais no Paraná (Tabela 5). As cultivares de cevada foram semeadas no mês de junho nos diferentes locais do RS e nos meses de maio e junho no PR. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com três repetições. As unidades experimentais foram de cinco linhas de seis metros de comprimento, espaçadas 0,17 m entre si, com densidade de semeadura de 280 sementes aptas/m².

Tabela 5 - Local de cultivo das cultivares e linhagens de cevada, datas de semeadura e colheita, área e tipo de solo de cada região. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012

Região	Semeadura (2012)	Colheita (2012)	Área	Solo
Bagé/RS	15/jun	20/nov	PPC*	Planossolo háplico eutrófico vertissólico
Candói/PR	16/ jun	24/out	PPC*	Latossolo bruno alumínico
Guarapuava/PR	31/ mai	05/ nov	FAPA	Latossolo bruno alumínico
Passo Fundo/RS	02/ jun	15/ out	Embrapa Trigo	Latossolo vermelho húmico de textura argilosa
Pinhão/PR	16/ jun	24/ out	PPC*	Latossolo amarelo alumínico
Teixeira Soares/PR	15/ jun	21/ out	PPC*	Latossolo vermelho distrófico
Victor Graeff/RS	21/mai	16/ out	PPC*	Latossolo vermelho húmico de textura argilosa

*PPC = propriedade de produtor credenciado

A condução dos ensaios em cada local foi realizada de acordo com as indicações técnicas para produção (REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CEVADA, 2011).

A colheita das parcelas foi realizada mecanicamente na maturação completa dos grãos. Em cada local foi colhida uma amostra composta de três repetições. Os grãos colhidos foram secados até a umidade de 12%, limpos e classificados com peneira de 2,5 mm e colocados para conservação em câmara seca com temperatura controlada até o envio das amostras aos laboratórios. Amostras homogêneas de 250 gramas de grãos por parcela foram preparadas e enviadas para análise da qualidade de malte três meses após a colheita.

3.2.2 Micromalteação

Os serviços de micromalteação foram realizados pelo VLB -Versuchs- und Lehranstalt fuer Brauerei in Berlin (*Research and Trenning Institute for Brewing*, Alemanha) e pela INBEV nos EUA, Os métodos de análise foram baseados pelo EBC (*European Brewing Convention*) e ASBC (*American Society of Brewery Chemists*) de padrão de malte (Tabela 6). Para ambos os laboratórios foram enviadas 250 g de sementes.

Os resultados obtidos pelos laboratórios foram submetidos à análise da variância, sendo que a normalidade (Shapiro-Wilk) dos dados fenotípicos obtidos foi testada a partir das análises de micromalteação e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade. ANOVAs individuais foram analisadas utilizando os

dados de micromaltação como variáveis dependentes pelo Programa SAS (SAS Institute, 2004 - versão 9,1).

A diversidade genética entre as cultivares, considerando às análises de micromaltação, foi determinada pela distância Euclidiana, sendo gerada a matriz da distância genética e dendrograma específico.

Tabela 6 – Variáveis de qualidade de malte e métodos de análises empregados. Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS – RS, 2013

Análises	Método	Padrão de qualidade	Laboratório	Referências
Extrato fino (% dm)	EBC	≥ 80	VLB	(EBC, 1987)
Viscosidade (mPa*s)	EBC	1,50 a 1,60	VLB	(EBC, 1987)
Teor de Proteínas (% dm)	EBC	10 a 12	VLB	(EBC, 1987)
Nitrogênio solúvel (mg/100g dm)	EBC	650 a 850	VLB	(EBC, 1987)
Índice de Kolbach (%)	EBC	38 a 44	VLB	(EBC, 1987)
β-glucanos (ppm mg/L)	EBC	< 200	VLB	(EBC, 1987)
α-amilase (DU)	EBC	≥ 45	VLB	(EBC, 1987)
Poder diastático (WK)	ASBC	≥220	INBEV	(ASBC, 1958)
FAN (mg/L)	ASBC	≥ 160	INBEV	(ASBC, 1958)

3.2.3 Extração de DNA e marcadores moleculares microsatélites

As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Trigo – Passo Fundo/RS.

A extração do DNA de tecido foliar foi baseada no método CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio), conforme descrito por Doyle & Doyle (1990), com algumas modificações. Para tal, 300 mg de folhas de plântulas, obtidas de sementes previamente semeadas em papel germitest, foram coletadas, inseridas dentro de tubos plásticos com capacidade de 2,0 mL, e maceradas em nitrogênio líquido. Para a

extração, utilizou-se 700 µL do tampão CTAB, pré-aquecido e adicionado às amostras. Estas foram incubadas a 65 °C em banho-maria por 60 minutos, invertendo os tubos a cada 10 minutos, seguidas de resfriamento em temperatura ambiente por 5 minutos. Após, foram utilizados 450 µL de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1), invertido por 10 minutos, seguida de centrifugação a 10.000 rpm por 10 minutos. Para precipitar o DNA, foi retirado o sobrenadante (aproximadamente 700 µL) para novos tubos, com capacidade de 1,5 mL, e adicionados 550 µL de isopropanol, incubando-se por no mínimo 30 minutos a -20 °C. O sobrenadante foi retirado e o *pellet* lavado com 600 µL de etanol 96% deixando secar em temperatura ambiente. Para a ressuspensão do *pellet*, foi utilizado 100 µL de tampão TE (Tris-HCl 10 mM, pH 8,0; EDTA 1 mM) e adicionado 0,3 µL de RNase (10mg/mL), misturando-se e incubando-se por uma hora a 37 °C. As amostras foram armazenadas a -20° C até o momento do uso.

Neste trabalho, inicialmente, foi analisada a distância genética das cultivares e linhagens em estudo, por meio de marcadores microssatélites genômicos, seguidos da identificação da presença de marcadores microssatélites específicos e associados aos genes responsáveis pela qualidade de malte. Deste modo, foi testado o polimorfismo de 96 *primers*, dos quais 55 apresentaram a característica. Dentre estes, 16 *primers* genômicos e nove *primers* específicos associados à qualidade de malte (Apêndice 2). Em ambos os casos, a seleção destes foi feita através de bases de dados e bibliografia específica para a cultura da cevada.

As ampliações de PCR foram realizadas em 15µl de solução contendo 0,2 µM de cada *primer* (*forward* e *reverse*), 0,35 mM de cada dNTP, 2,5 mM de MgCl₂, 0,75 U de Taq polimerase, tampão 1X e 80 ng de DNA de cada cultivar em estudo.

As reações foram conduzidas em termociclador GeneAmpThermal Cycler 9700 (Applied Biosystems - ABI) utilizando-se a seguinte programação: um ciclo a 95° C por 3 min; 10 ciclos de 94° C por 45 s [60° C por 45 s (decrecendo 1° C por ciclo até 55° C)], 72° C por 45 s; 25 ciclos de 94° C por 45 s, 50° C por 45 s, 72° C por 45 s; e um ciclo de 72° C por 5 min.

A eletroforese foi realizada em gel de agarose 3% e 4%, por 3 horas sob 120 Volts. O marcador DNA Ladder empregado foi de 100 pb. Os géis foram visualizados em fotodocumentador digital GelDoc XR+ (Bio-Rad).

Foram realizadas inicialmente, análises de presença e ausência de cada alelo para cada marcador e determinada a porcentagem em cada caso. As cultivares foram consideradas como unidades taxonômicas operacionais e como caracteres binários as bandas obtidas pelos marcadores. Para determinar a diversidade genética, foi gerada a matriz da distância genética de acordo com Nei (1972) e o método de agrupamento por UPGMA, “Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages” desenvolvido por Sokal & Michener (1958). O sistema utilizado para a geração dos dados foi o NTSys versão 2.1 “Numerical Taxonomy System of Multivariate Analysis System” (ROHLF, 1998). Por meio destas análises, foi gerada a matriz de distância genética e dendrogramas específicos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Micromalteação e interação genótipo x ambiente

Malteação é, acima de tudo, uma prática de bioquímica aplicada, especialmente enzimologia. Quando o grão de cevada é germinado, enzimas hidrolíticas são convertidas em formas ativas que podem degradar com facilidade os compostos. A manipulação das enzimas que degradam as proteínas do malte possibilita produzir maltes de alta qualidade, no entanto, este não é um processo fácil. Semelhante à situação de rendimento de grãos, qualidade de malte é um fenótipo economicamente importante, mas com herança genética complexa (BAMFORTH & BARCLAY, 1993).

No presente estudo, visando às análises de micromalteação, foi necessário a obtenção de sementes em quantidade e qualidade suficientes. Para isso, as sementes foram colhidas das plantas desenvolvidas em campo no ano de 2012, para os diferentes locais de cultivo (Tabela 5) e selecionadas conforme as exigências dos Laboratórios VLB - Alemanha e ABInbev – Estados Unidos, onde foram realizadas tais análises viaprestação de serviços.

Durante os meses de cultivo, verificou-se que no período de desenvolvimento vegetativo (maio, junho e julho) ocorreram chuvas com volumes acima do normal (< 100 mm) em praticamente todas localidades e com temperaturas médias acima de 12 °C (Figura 4).

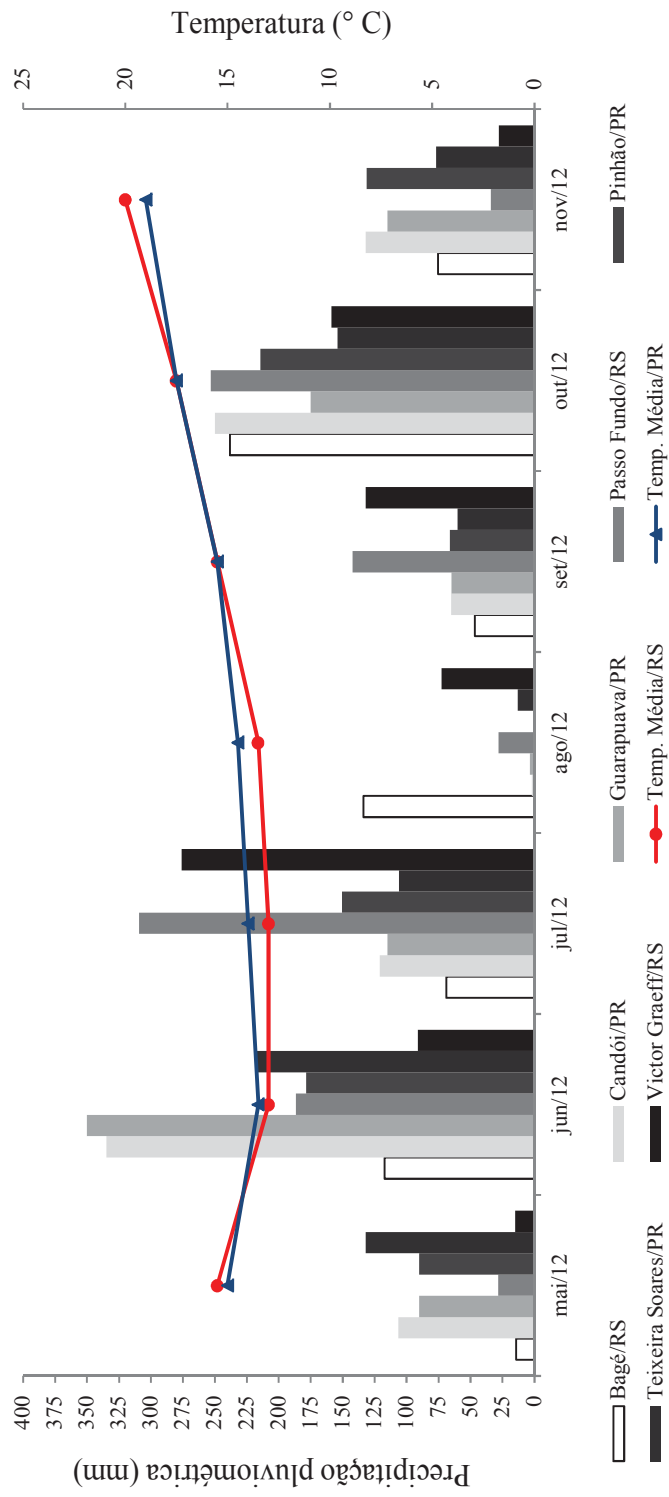


Figura 4 - Precipitação pluviométrica e temperaturas médias nas diferentes regiões de produção de cevada no sul do Brasil. Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2013.

No estágio de espigamento e enchimento de grãos houve uma queda brusca nos volumes de chuvas, causando um período de estiagem mas não prejudicou o desenvolvimento da cultura. Em contrapartida, no mês de outubro, onde a cultura estava no estágio de senescência e desidratação das sementes ocorreu excesso de chuvas acompanhado de temperaturas em constante elevação, fatores estes que associados prejudicam a qualidade das sementes (INMET, 2014; LABORATÓRIO DE AGROMETEOROLOGIA DA EMBRAPA TRIGO, 2014).

De acordo com Dias (2001), o intervalo entre a maturidade fisiológica e a colheita é crítico pois as sementes permanecem ligadas à planta apenas fisicamente, ficando expostas a uma série de condições adversas no campo.

No caso da cevada cervejeira, o clima e o comportamento de cada cultivar em determinado ambiente são fortes fatores de influência para a obtenção de um malte de boa qualidade (MIRALLES et al., 2011). Para que se conheça o comportamento de cada genótipo em determinado local de cultivo, é imprescindível estudar e analisar o desempenho dos mesmos de acordo com a interação genótipo x ambiente (KANG, 1990).

Verificou-se, no presente estudo, pela análise de variância (Tabela 7), que o ambiente (local) influenciou as nove variáveis para qualidade de malte. Este fato é semelhante aos estudos conduzidos por Borowsky (2012), nos quais o local também influenciou todas as características de malte analisadas.

Foram observadas diferenças significativas entre os locais para as variáveis extrato fino, viscosidade, teor de proteínas,

nitrogênio solúvel e FAN. Variabilidade significativa entre local e genótipo foi observada nas variáveis índice de Kolbach, β -glucanos, α -amilase e poder diastático.

A influência do local, em todas as variáveis, pode ser explicada pelo fato de que os genótipos são selecionados para características de alta produtividade e ampla adaptabilidade. Fato este também abordado por Borowsky (2012), que considerou que os genótipos são pouco específicos para diferentes regiões de cultivo.

Tabela 7 – Valor do teste F e coeficiente de variação das variáveis de malte considerando local, genótipo e local/genótipo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013

Variáveis de qualidade	Valor teste F	Coeficiente variação
Extrato fino (% dm)	4.09	1.35*
Viscosidade (mPa*s)	4.36	5.22*
Teor de proteínas (ppm mg/L)	6.26	6.52*
Nitrogênio solúvel (mg/100g dm)	15.86	6.23*
Índice de Kolbach (%)	8.79	6.22***
β -glucanos (mg/L)	10.22	26.50***
α -amilase (DU)	19.49	13.03***
Poder diastático (WK)	14.79	10.36***
FAN (mg/L)	33.18	9.02*

Significância a < 0,001: * Local; ** genótipo; ***Local/Genótipo.

Segundo Ehrenbergerová et al. (2008) e Savin & Aguinaga (2011), algumas variáveis de qualidade de malte como teor de proteínas, nitrogênio solúvel e FAN são fatores fortemente influenciados por fatores ambientais. O baixo índice de matéria orgânica no solo, e principalmente ocorrência de temperaturas elevadas no período de pré-floração e enchimento de grãos, atuam diretamente na distribuição de nitrogênio para diferentes partes da planta bem como propicia o aumento β -glucanos nos grãos.

Com relação aos resultados das médias de cada variável de qualidade, considerando os genótipos avaliados para cada local de cultivo, estas foram comparadas pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade, estando especificadas na Tabela 8. Porém, os dados de qualidade de malte na indústria cervejeira são interpretados de forma diferenciada e recebem classificações de acordo com os níveis de qualidade. Para isso propôs-se escores de classificação (Tabela 9), visando o auxílio à interpretação dos dados contidos na Tabela 8. Os resultados das análises de micromalteação, considerando todas as variáveis analisadas separadamente para cada local e genótipo de cevada, são apresentados nas Tabelas 10 a 18. Cabe ressaltar que para muitos dos valores obtidos destas análises, os critérios de seleção podem variar dependendo do método empregado.

Tabela 8 – Médias obtidas de cada variável de qualidade para os genótipos de cevada cultivados em campo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013

Genótipos	Extrato fino (% dm)		Viscosidade (mPa*s)	Teor de proteínas (ppm mg/L)	Nitrogênio solúvel (mg/100g dm)	Índice de Kolbach (%)	β-glucanos (mg/L)	α-amilase (DU)	Poder diastático (WK)	FAN (mg/L)
	80.10 a	79.43 ab								
BRS Brau	80.10 a	1.56 b	11.71 a	819.14 a	43.70 a	342.86 d	60.37 bc	356.05 bcde	183.52 ab	
BRS Cauê	79.43 ab	1.61 ab	11.92 a	831.39 a	43.566 a	568.43 abcd	66.32 ab	457.37 a	184.60 ab	
BRS Elis	80.40 a	1.62 ab	11.55 a	813.39 a	43.686 a	564.43 abcd	60.94 abc	342.05 cde	174.13 abc	
MN 610	78.69 ab	1.69 ab	12.52 a	718.71 b	35.86 c	843.43 a	42.14 d	296.97 e	150.33 c	
MN 743	79.20 ab	1.62 ab	12.81 a	783.67 ab	38.13 bc	739.14 ab	51.56 cd	413.97 abc	176.73 abc	
MN 6021	79.96 ab	1.62 ab	11.68 a	790.71 ab	42.43 ab	651.71 abc	55.73 bcd	308.95 de	173.14 abc	
Scarlett	80.10 a	1.61 ab	11.61 a	805.39 ab	43.39 a	574.00 abcd	74.55 a	413.63 abc	186.47 ab	
PFC 2007020	79.56 ab	1.62 ab	12.42 a	801.43 ab	40.39 abc	486.86 bcd	49.45 cd	414.57 abc	167.97 abc	
PFC 2007052	78.10 b	1.71 a	12.48 a	758.43 ab	38.13 bc	733.71 ab	60.81 abc	346.91 cde	165.16 abc	
PFC 2007057	80.66 a	1.69 ab	11.57 a	750.43 ab	40.43 abc	738.14 ab	62.32 abc	426.89 ab	160.00 bc	
PFC 2007103	79.56 ab	1.64 ab	12.31 a	793.14 ab	40.13 abc	704.43 ab	58.75 bc	407.46 abc	163.53 abc	
BRS Korbel	78.96 ab	1.56 b	11.65 a	813.39 a	44.09 a	362.86 cd	67.86 ab	380.13 bcd	188.33 a	

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Em negrito: valores insuficientes para a variável.

Tabela 9 - Escores de classificação propostos quanto aos diferentes níveis de aceitação industrial para a malteação. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013

Genótipos	Extrato fino	Viscosidade	Teor de		Índice de		Poder			
			proteínas	Nitrogênio solúvel	Kolbach	β -glucanos	α -amilase	diastático	FAN	
BRS Brau	S	S	S	B	B	NS	B	B	S	MB
BRS Cauê	NS	NS	S	B	B	NS	MB	MB	S	MB
BRS Elis	S	NS	S	B	B	NS	B	B	S	MB
MN 610	NS	NS	NS	MB	NS	NS	NS	NS	S	NS
MN 743	NS	NS	NS	MB	B	NS	B	B	S	MB
MN 6021	NS	NS	S	MB	B	NS	B	B	S	B
Scarlett	S	NS	S	B	B	NS	MB	MB	S	MB
PFC 2007020	NS	NS	NS	B	MB	NS	B	B	S	B
PFC 2007052	NS	NS	NS	MB	B	NS	B	B	S	B
PFC 2007057	S	NS	S	MB	MB	NS	MB	MB	S	B
PFC 2007103	NS	NS	NS	MB	MB	NS	B	B	S	B
BRS Korbel	NS	S	S	B	NS	NS	MB	MB	S	MB

Variáveis e exigências necessárias:

Extrato fino, viscosidade, teor de proteínas, β -glucanos: NS = Não satisfatório; S= Satisfatório; Poder diastático: NS = Não satisfatório (> 300); S = satisfatório (250 a 300); Nitrogênio solúvel: B = Bom (650 a 700/ 800 a 850); MB = Muito bom (701 a 799); Índice de Kolbach: NS = Não satisfatório (<38%); B = Bom (38 a 40%/42 a 44%); MB = Muito bom (40,1 a 41,9%) α -amilase: NS = Não satisfatório < 45; B = Bom (45 a 61,5); MB = Muito bom (>61,6).

FOX (2008) destaca que o extrato fino é um dos caracteres mais importantes do malte do ponto de vista econômico. Considerando os padrões para qualidade desta variável, Zschoerper (2009) cita índices de no mínimo 80,5% e Bamforth & Barclay (1993) citam 80,4%. A EBC (1987) estabelece 80%, sendo este último o índice usado no presente trabalho (Tabela 10).

Tabela 10 - Análise de extrato fino a partir da micromalteação de genótipos por local de cultivo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013

Genótipo	Bagé	Candói	Guarapuava	Victor Graeff	Passo Fundo	Pinhão	Teixeira Soares
% dm							
BRS Brau	80,2*	78,4	81,8*	79,6	79,8	79,4	81,5*
BRS Cauê	78,1	80,8*	80,4*	78,9	78,4	80,6*	78,8
BRS Elis	79,2	80,3*	82,2*	79,1	79,2	80,5*	82,3*
MN 610	80,1*	78,2	77,8	79,3	78,0	79,6	77,8
MN 743	80,2*	79,4	78,9	78,8	77,5	80,7*	78,9
MN 6021	79,7	81,8*	81,2*	77,6	78,0	80,9*	80,5*
Scarlett	79,1	79,6	82,0*	78,6	78,8	79,8	82,8*
PFC 2007020	78,1	79,1	81,4*	79,1	80,2*	77,9	80,4*
PFC 2007052	77,8	76,6	79,2	77,8	78,0	78,9	78,4
PFC 2007057	80,6*	81,7*	81,2*	78,3	79,7	81,0*	81,4*
PFC 2007103	79,1	78,3	80,9*	78,2	79,0	79,6	81,1*
BRS Korbel	81,2*	77,2	79,6	77,6	77,6	80,7*	78,2

* Variável aceita indicando qualidade para a malteação.

Observou-se que o melhor local para extrato fino foi Guarapuava/PR, onde oito dos doze tratamentos apresentaram qualidade para esta variável. O local menos favorável foi Victor Graeff/RS, onde nenhum tratamento atingiu o padrão mínimo.

Dentre os tratamentos, a linhagem PFC 2007057 apresentou melhor desempenho para a variável extrato fino, sendo

considerado suficiente em cinco dos sete locais testados, em comparação à PFC 2007052, que foi insuficiente em todos os locais testados. Estes dados corroboram com o teste de comparação de médias que indica que ambas as linhagens diferem entre si (Tabela 8). Assim, como a linhagem PFC 2007057, as cultivares BRS Brau, BRS Elis e Scarlett atingiram níveis satisfatórios nesta variável para malteação (Tabela 9).

Na Tabela 7, em que consta o coeficiente de variação das variáveis de qualidade de malte considerando local e genótipo, observa-se que a variável extrato fino sofreu influência do local. Resultados similares foram relatados por Kowalska et al. (2000) e Lapitan et al. (2009), que encontraram grande variabilidade no extrato fino em cultivares cervejeiras, quando comparados anos e locais de cultivo.

Outros estudos apontam que mesmo um material genético já lançado como cevada cervejeira, pode não manter os índices de lançamento, sendo, portanto, fortemente influenciados pelas condições ambientais (PSOTA et al., 2009 ; VERMA & SARKAR, 2010).

Para a variável de viscosidade, Tschöpe (1999) informou valores $< 1,6$ mPa*s, e Aastrup & Erdal (1980) consideraram aceitáveis valores entre 1,50 e 1,70 mPa*s. Porém, pela EBC (1987) (padrão que foi usado neste trabalho), o valor estimado para esta análise é de 1,50 a 1,60 mPa*s (Tabela 11).

Tabela 11 - Análise de viscosidade a partir da micromalteação de genótipos por local de cultivo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013

Genótipo	Bagé	Candói	Guarapuava	Victor	Passo	Teixeira	
				Graeff	Fundo	Pinhão	Soares
mPa*s							
BRS Brau	1,57*	1,50*	1,59*	1,57*	1,56*	1,51*	1,61
BRS Cauê	1,52*	1,58*	1,74	1,57*	1,61	1,67	1,68
BRS Elis	1,62	1,60*	1,67	1,60*	1,54*	1,64	1,66
MN 610	1,62	1,92	1,99	1,59*	1,60*	1,46	1,75
MN 743	1,55*	1,59*	1,78	1,56*	1,56*	1,63	1,76
MN 6021	1,59*	1,60*	1,67	1,56*	1,60*	1,67	1,64
Scarlett	1,57*	1,63	1,65	1,59*	1,52*	1,70	1,69
PFC 2007020	1,58*	1,58*	1,58*	1,53*	1,55*	1,95	1,66
PFC 2007052	1,58*	1,68	1,81	1,59*	1,55*	1,76	2,08
PFC 2007057	1,63	1,60*	1,72	1,60*	1,61	1,80	1,84
PFC 2007103	1,61	1,59*	1,73	1,60*	1,59*	1,63	1,83
BRS Korbel	1,51*	1,54*	1,6*	1,50*	1,53*	1,58*	1,65

*Variável aceita indicando qualidade para a malteação.

Para esta variável, o melhor local foi Victor Graeff/RS, onde todos os tratamentos apresentaram qualidade para viscosidade e o local menos favorável foi Teixeira Soares/PR. Dentre os tratamentos, as cultivares BRS Brau e BRS Korbel apresentaram igualmente melhor desempenho, sendo consideradas suficientes em seis dos sete locais testados, em comparação à linhagem PFC 2007057 que foi insuficiente em cinco dos sete locais testados.

Pela análise de comparação das médias (Tabela 8), BRS Brau e BRS Korbel não diferiram entre si e diferiram parcialmente com os demais genótipos, inclusive com a linhagem PFC 2007057, que obteve resultados menos satisfatórios. (Tabela 9).

A alta viscosidade promove maior tempo de clarificação e dificuldades de filtração da cerveja. Segundo Mather et al. (1997), os elevados valores da viscosidade podem estar relacionados ao alto teor proteico nos grãos. Do mesmo modo, Bhatti & Rossnagel (1998) afirmaram que as proteínas podem sofrer desnaturação ou podem se complexar com o amido, aumentando a viscosidade.

Quanto à análise do coeficiente de variação considerando local e genótipo (Tabela 7), Ogushi et al. (2002b) destacam que a viscosidade é mais fortemente influenciada por componentes genéticos do que por efeitos ambientais. Porém, neste trabalho observou-se que a variável sofreu influência significativa do local.

A avaliação do teor de proteínas é muito importante, pois influencia diversas características da cerveja, como cor, espuma, paladar e estabilidade. Segundo Kunze (2006), o ideal é de no máximo 11,5%. Entretanto, pela EBC (1987) o valor estimado para esta análise é de 10 a 12% (Tabela 8), sendo este o padrão que foi usado no trabalho.

Comparando-se os resultados da Tabela 12, os melhores locais foram Pinhão/PR e Teixeira Soares/PR, onde dez, dos doze tratamentos, apresentaram qualidade para a variável viscosidade, e o local menos favorável foi Passo Fundo/RS, onde nenhum tratamento foi favorável.

Resultados não satisfatórios para o teor de proteínas foi observado nas cultivares MN 610, MN 743 e nas linhagens PFC 2007020, PFC 2007052 e PFC 2007103 (Tabela 9) que foram insuficientes em seis dos sete locais testados. Porém, pela análise de

comparação das médias, ambos materiais não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 8).

Tabela 12 – Teor de proteínas a partir da micromalteação de genótipos por local de cultivo. Índice expresso em %. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013

Genótipo	Bagé	Candói	Guarapuava	Victor Graeff	Passo Fundo	Pinhão	Teixeira Soares
%							
BRS Brau	12,2	11,8*	11,6*	11,2*	13,6	10,8*	10,8*
BRS Cauê	11,5*	11,8*	12,1	11,3*	13,5	11,4*	11,9*
BRS Elis	11,4*	11,2*	11,4*	13,0	13,4	11,3*	9,2*
MN 610	11,6*	12,2	14,2	11,7*	13,6	11,5*	12,9
MN 743	12,2	13,1	13,4	12,9	14,6	11,1*	12,4
MN 6021	12,5	10,8*	10,7*	13,2	13,8	11,0*	9,8*
Scarlett	11,6*	11,3*	11,7*	12,6	14,2	11,0*	8,9*
PFC 2007020	13,2	13,1	11,6	12,4	12,6	12,3	11,8*
PFC 2007052	13,4	13,5	12,4	12,5	12,9	11,6*	11,1*
PFC 2007057	11,9*	10,9*	12,4	11,9*	12,8	10,8*	10,3*
PFC 2007103	12,1	14,0	12,5	11,7*	13,5	12,2	10,2*
BRS Korbel	11,8*	12,1	11,6*	10,9*	13,4	11,6*	10,2*

*Variável aceita indicando qualidade para a malteação.

Segundo Chapman & Carter (1976), temperatura média alta e baixa umidade relativa do ar, no período de enchimento dos grãos, promoveram acréscimo no teor de proteína. Estes dados corroboram com os dados climáticos que indicaram que nos meses de agosto e setembro, as precipitações no Sul do Brasil ficaram abaixo do padrão climatológico e as temperaturas mínimas e máximas ficaram acima do padrão climatológico (INMET, 2014). Problemas no teor de proteínas associado ao ambiente também foi constatado por Correll et al. (1994) e Passarella et al. (2005), onde citam uma diminuição no tamanho de grão e conseqüentemente o aumento no teor de proteínas em detrimento do clima seco e quente.

Para a variável de nitrogênio solúvel, as indicações de Tschope (1999) citam que valor padrão para esta análise deve ser de 650 a 820 mg/100g dm, diferente do que indica a EBC (1987) que é de 650 a 850 mg/100g dm. No presente trabalho (Tabela 13), utilizando o padrão da EBC, foi verificado que os melhores locais foram Candói/PR e Guarapuava/PR, onde todos os tratamentos apresentaram qualidade para nitrogênio solúvel. O local menos favorável foi Passo Fundo/RS, em que onze dos doze tratamentos testados não atingiram o padrão mínimo.

Tabela 13 - Análise de nitrogênio solúvel a partir da micromalteação de genótipos por local de cultivo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013

Genótipo	Bagé	Candói	Guarapuava	Victor Graeff	Passo Fundo	Pinhão	Teixeira Soares
mg/100g DM							
BRS Brau	830*	798*	837*	865	949	718*	737*
BRS Cauê	838*	789*	840*	831*	956	768*	797*
BRS Elis	779*	733*	807*	999	999	722*	654
MN 610	743*	689*	650*	720*	924	676*	629*
MN 743	853	757*	755*	888	928	641	663
MN 6021	860	783*	682*	924	879	767*	640*
Scarlett	796*	695*	802*	970	1021	665*	688
PFC 2007020	855	831*	710*	923	904	692*	695
PFC 2007052	781*	683*	742*	920	917	642	624*
PFC 2007057	791*	728*	757*	808*	842*	671*	656
PFC 2007103	787*	834*	774*	829*	913	770*	645*
BRS Korbel	860	803*	771*	826*	920	815*	698

*Variável aceita indicando qualidade para a malteação.

Dentre os tratamentos, as cultivares BRS Cauê e MN 610 e as linhagens PFC 2007057 e PFC 2007103 apresentaram igualmente melhor desempenho para a variável, tendo seus índices considerados satisfatórios em seis dos sete locais testados. Contrariamente, a

cultivar MN 743 foi insatisfatória para a variável em cinco dos sete locais testados. Considerando as médias dos genótipos nos locais, observou-se que as cultivares MN 610, MN 743, MN 6021 e as linhagens PFC 2007052, PFC 2007057 e PFC 2007103 apresentaram índices favoráveis para a variável (Tabela 13).

Pela comparação de médias (Tabela 8), houve diferença significativa entre os genótipos BRS Cauê e MN 610 para esta característica, sendo que ambos obtiveram médias satisfatórias. No caso do coeficiente de variação, considerando local e genótipo, observou-se que a influência maior e estatisticamente significativa foi do local, dado este que concorda com Sávio & Aguinaga (2011), para os quais o nitrogênio solúvel é mais fortemente influenciado pelo ambiente do que pelo genótipo.

Quanto aos teores de nitrogênio solúvel e de Kolbach, estes estão relacionados com a solubilização proteica do malte (EUROPEAN BREWERY CONVENTION, 1997). Passarella et al. (2003) afirmaram que a quantidade de nitrogênio solúvel no mosto é importante para a sustentação do crescimento das leveduras e do metabolismo. Assim, quanto maior a atividade das enzimas proteolíticas durante a malteação, maior será o valor do nitrogênio solúvel. Entretanto, um elevado índice de nitrogênio solúvel promove efeito negativo na estabilidade físico-química da cerveja.

O índice de Kolbach é importante para informar sobre a modificação da proteína e é fornecido pela relação entre o nitrogênio solúvel e o nitrogênio total (EUROPEAN BREWERY CONVENTION, 1997). Conforme Tschope (1999) e EBC (1987), o valor padrão para esta análise é de 38 a 44%, sendo que neste trabalho

os valores de referência foram conforme o especificado pela EBC (Tabela 14).

Tabela 14 - Análise índice de Kolbach a partir da micromalteação de genótipos por local de cultivo. Embrapa Trigo, Passo Fundo– RS, 2013

Genótipo	Bagé	Candói	Guarapuava	Victor Graeff	Passo Fundo	Pinhão	Teixeira Soares
%							
BRS Brau	43*	42*	45	48	43*	42*	43*
BRS Cauê	46	42*	43*	46	44*	42*	42*
BRS Elis	43*	41*	44*	48	47	40*	44*
MN 610	40*	35	29	38*	42*	37	30
MN 743	44*	36	35	43*	40*	36	33
MN 6021	43*	45	40	44*	40*	44*	41*
Scarlett	43*	38*	43*	48	45	38*	48
PFC 2007020	40*	40*	38*	47	45*	35	37
PFC 2007052	37	32	37	46	45	35	35
PFC 2007057	41*	42*	38*	42*	41*	39*	40*
PFC 2007103	41*	37	39*	44*	42*	39*	39*
BRS Korbel	46	42*	42*	48	43*	44*	43*

* Variável aceita indicando qualidade para a malteação.

Observou-se que os melhores locais foram Bagé/RS e Passo Fundo/RS, onde nove dos doze tratamentos apresentaram qualidade para esta variável e o local menos favorável foi Victor Graeff/RS, em que sete dos doze tratamentos testados não atingiram o padrão mínimo pela EBC (1987). No caso dos tratamentos, a linhagem PFC 2007057 apresentou melhor desempenho em todos os locais testados. Já a linhagem PFC 2007052, mesmo apresentando-se insatisfatória para os mesmos locais, apresentou níveis satisfatórios na média geral (Tabela 8). Ambas as linhagens diferiram parcialmente na comparação de médias a 1%, e o único genótipo que não atingiu a média satisfatória para a variável foi a cultivar MN 610 (Tabelas 8 e 9).

Pela análise do coeficiente de variação, considerando local e genótipo, observou-se que o índice de Kolbach sofreu influência tanto do local quanto do genótipo. Diversos estudos encontraram dados similares informando que esta variável é fortemente influenciada por ambas características (SILVA et al., 2000; KACZMAREK et al., 2002; AMABILE et al., 2008; SARKAR et al., 2008; FOX, 2010).

Para os teores de β -glucanos, Palmer (1999) indica que o valor padrão para esta análise deve ser <100 ppm mg/L; Brennan et al. (1996) indicam <145 ppm mg/L e Tschope (1999) informa que deve ser <250 ppm mg/L, contrapondo do que é informado pela EBC (1987), que deve ser < 200 ppm mg/L, índice este que foi utilizado como referência no presente estudo (Tabela 15).

Tabela 15 - Análise de β -glucanos a partir da micromalteação de genótipos por local de cultivo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013

Genótipo	Bagé	Candói	Guarapuava	Victor	Passo	Pinhão	Teixeira
				Graeff	Fundo		Soares
ppm mg/L							
BRS Brau	637	271	249	170*	260	277	536
BRS Cauê	519	662	766	192*	298	834	708
BRS Elis	846	581	778	144*	231	749	622
MN 610	803	633	937	937	720	937	937
MN 743	526	937	910	303	690	871	937
MN 6021	763	558	625	266	795	937	618
Scarlett	577	552	847	245	257	899	641
PFC 2007020	770	315	296	95*	274	937	721
PFC 2007052	937	863	937	282	243	937	937
PFC 2007057	791	542	937	215	808	937	937
PFC 2007103	750	657	937	192*	736	722	937
BRS Korbel	275	246	621	120*	212	548	518

* Variável aceita indicando qualidade para a malteação.

Destaca-se que a cevada cervejeira deve apresentar teores baixos de β -glucanos (AASTRUP & ERDAL, 1980; GALLANT et al., (1991); BRENNAN et al., 1996), pois teores altos propiciam a formação de coloides, prejudicando o processo de fabricação de cerveja na etapa de filtração.

Neste trabalho, observou-se que, de forma geral, os locais e genótipos apresentaram insuficiência para esta variável (Tabela 9), com exceção de Victor Graeff/RS, onde seis dos doze genótipos atingiram o padrão mínimo pela EBC (1987). Entre os tratamentos, a maior diferença estatística, observada pela comparação das médias, foi entre BRS Brau e MN610, onde a primeira cultivar foi a que obteve o melhor índice (mesmo que insatisfatório na média geral), enquanto que a segunda foi insatisfatória em todos os locais e obteve o índice menos satisfatório no teste de comparação de médias (Tabela 8).

Diante dos resultados do coeficiente de variação para local e genótipo (Tabela 7), observou-se que o teor de β -glucanos foi influenciado tanto por genótipo quanto por local/ambiente, o que corrobora com outros trabalhos que citam esta interação sobre a variável (POWELL et al., 1985; HENRY, 1986; NARASIMHALU et al., 1995; FASTNAUGHT et al., 1996; MOLINA-CANO et al., 1997; ZHANG et al., 2001; OGUSHI et al., 2002b; YALÇIN et al., 2007).

A α -amilase, por sua vez, é uma enzima que desenvolve um papel crucial na transformação do amido em maltose. Assim, índices baixos desta variável acarretam problemas na fabricação da cerveja (HOSENEY, 1994; GEORG-KRAEMER et al., 2001).

Peterson (2001) indica que o valor padrão para a α -amilase no malte deve ser ≥ 20 DU, contrapondo do que indica a EBC (1987) que deve ser ≥ 45 DU, referência usada no presente trabalho (Tabela 16).

Tabela 16 - Análise de α -amilase a partir da micromalteação de genótipos por local de cultivo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013

Genótipo	Bagé	Candói	Guarapuava	Victor	Passo	Teixeira	
				Graeff	Fundo	Pinhão	Soares
DU							
BRS Brau	85,3*	67,5*	42,6	57,5*	63,1*	55,9*	50,3*
BRS Cauê	83,7*	69,2*	42,6	69,9*	70,6*	62,5*	65,4*
BRS Elis	91,0*	71,2*	24,2	83,4*	41,5	59,4*	55,6*
MN 610	48,5*	41,1	43,6	49,2*	43,8	36,5	32,1
MN 743	65,5*	63,5*	33,7	62,2*	53,2*	42,8	39,9
MN 6021	64,4*	58,2*	36,6	73,8*	57,3*	46,1*	53,5*
Scarlett	94,7*	73,4*	39,0	103,8*	72,1*	71,5*	67,0*
PFC 2007020	72,4*	51,0*	32,6	58,8*	45,8*	40,5	44,9
PFC 2007052	84,2*	56,3*	35,1	89,7*	60,9*	47,0*	52,1*
PFC 2007057	80,9*	62,9*	42,5	83,2*	59,3*	52,3*	54,8*
PFC 2007103	90,5*	61,0*	33,7	65,2*	53,1*	53,2*	54,2*
BRS Korbel	93,9*	73,4*	44,1	69,7*	67,9*	62,9*	62,9*

* Variável aceita indicando qualidade para a malteação.

Para esta variável, observou-se que os melhores locais foram Bagé/RS e Victor Graeff/RS, onde todos os tratamentos apresentaram níveis satisfatórios. Contudo, o local menos favorável foi Guarapuava/PR, onde todos os tratamentos testados não atingiram o padrão mínimo. De modo geral, nos demais locais os tratamentos apresentaram bom desempenho. Para os tratamentos, somente a cultivar MN 610 apresentou dados insatisfatórios em cinco dos sete locais testados, sendo que este dado corrobora com a análise de comparação das médias que indica a MN 610 como a cultivar que

mais diferencia do restante dos genótipos estudados e a única que não atinge índice mínimo para a variável (Tabela 8).

Para a média dos locais, segundo a Tabela 9, os genótipos BRS Cauê, Scarlett, PFC 2007057 e BRS Korbel apresentaram médias consideradas “Muito Bom” para a variável. Pela análise do coeficiente de variação (Tabela 7), observou-se que esta variável é influenciada igualmente por ambos fatores, dados estes que vão ao encontro do que citam Yan et al. (1999), quando analisaram em seus estudos a forte relação do genótipo x ambiente nas análises de α -amilase.

Para a variável de poder diastático, Bamforth & Barclay, (1993) citam que o valor padrão para esta análise deve ser ≥ 230 WK; Tschope (1999) indica que este valor deve ser > 200 WK. Ambos divergem do padrão da ASBC (1958) de ≥ 220 WK, selecionado para este trabalho (Tabela 17).

Tabela 17 - Análise de poder diastático a partir da micromalteação de genótipos por local de cultivo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013

Genótipo	Bagé	Candói	Guarapuava	Victor Graeff	Passo Fundo	Pinhão	Teixeira Soares
WK							
BRS Brau	427,9*	351,3*	310,7*	314,5*	434,5*	336,3*	317,3*
BRS Cauê	514,1*	512,9*	373,0*	386,9*	515,0*	458,1*	441,0*
BRS Elis	419,4*	347,1*	225,5*	443,8*	339,0*	322,8*	296,8*
MN 610	361,7*	296,3*	259,0*	288,5*	322,0*	264,5*	286,8*
MN 743	515,2*	412,6*	302,8*	421,9*	439,3*	341,6*	351,7*
MN 6021	360,4*	319,3*	272,5*	351,0*	357,4*	282,2*	289,6*
Scarlett	456,0*	371,6*	253,2*	544,2*	470,7*	377,1*	310,5*
PFC 2007020	542,7*	414,2*	333,7*	459,6*	419,8*	308,7*	422,9*
PFC 2007052	397,4*	351,8*	259,1*	450,7*	385,6*	267,2*	316,2*
PFC 2007057	511,0*	422,8*	349,2*	521,5*	445,3*	341,9*	396,4*
PFC 2007103	594,3*	417,6*	301,8*	394,3*	394,7*	380,6*	368,5*
BRS Korbel	490,6*	423,3*	257,7*	381,0*	433,3*	322,9*	352,1*

* Variável aceita indicando qualidade para a malteação.

Observa-se na Tabela 17 que todos os genótipos e locais foram satisfatórios para esta variável. Porém, pelo teste de comparação das médias, a cultivar MN 610 obteve a menor média e, mesmo diferenciando estatisticamente dos demais genótipos analisados (Tabela 8), atingiu escore satisfatório para a variável (Tabela 9). Os teores de poder diastático foram afetados igualmente por local e genótipo (Tabela 7), o que é aceitável para esta variável, quando comparado com os dados de Yan et al. (1999).

Para a variável de FAN, tanto Zschoerper (2009) e ASBC (1958) citam que este o valor deve ser ≥ 160 mg/L. No presente trabalho, observou-se que o local foi decisivo para a qualidade desta variável (Tabelas 7 e 18), sendo que em Bagé/RS, Passo Fundo/RS e Victor Graeff/RS todos os tratamentos apresentaram qualidade, enquanto que em Guarapuava/PR e Teixeira Soares/PR todos os tratamento testados não atingiram o padrão mínimo pela ASBC (1958).

Tabela 18 - Análise de FAN – amino nitrogênio livre, a partir da micromalteação de genótipos por local de cultivo. Embrapa Trigo, Passo Fundo– RS, 2013

Genótipo	Bagé	Candói	Guarapuava	Victor	Passo	Teixeira	
				Graeff	Fundo	Pinhão	
mg/L							
BRS Brau	214,0*	173,4*	128,1	205,0*	226,6*	184,6*	152,8
BRS Cauê	188,7*	168,4*	132,5	219,4*	247,5*	177,3*	158,1
BRS Elis	202,4*	144,0	103,4	284,4*	187,7*	149,2	147,8
MN 610	160,7*	129,9	127,5	174,6*	207,9*	127,2	124,3
MN 743	208,5*	173,5*	118,6	218,6*	220,2*	156,9	140,5
MN 6021	204,9*	139,3	115,2	234,9*	227,0*	141,0	149,6
Scarlett	198,3*	146,2	123,7	265,9*	251,0*	171,1*	148,0
PFC 2007020	206,7*	138,6	118,6	241,6*	198,8*	136,3	134,3
PFC 2007052	182,3*	129,4	113,0	232,3*	220,6*	143,3	135,1
PFC 2007057	172,9*	133,9	122,5	231,0*	190,1*	138,1	131,1
PFC 2007103	205,8*	135,9	109,7	216,2*	199,8*	148,3	128,9
BRS Korbel	234,6*	171,6*	136,0	237,0*	224,8*	160,0*	154,0

* Variável aceita indicando qualidade para a malteação.

Comparando-se todos os locais, as cultivares que apresentaram melhor desempenho foram BRS Brau, BRS Cauê e BRS Korbel, sendo satisfatórias para a análise em cinco dos sete locais testados. Pelo teste de comparação de médias, estas cultivares diferiram parcialmente entre si, e diferiram totalmente com a cultivar MN 610, que obteve a menor média para a variável, sendo considerada insatisfatória (Tabela 9).

Diante do exposto, e fazendo-se uma análise ampla através do teste de comparação das médias (Tabela 8) para todas as variáveis avaliados da micromalteação, observou-se que os tratamentos BRS Brau, BRS Elis, Scarlett e PFC 2007057 obtiveram o maior número de variáveis positivas para qualidade de malte.

Estes dados demonstram que as cultivares nacionais equiparam-se igualmente às internacionais quanto à qualidade, principalmente se comparadas com a cultivar Scarlett que é reconhecida mundialmente por seu desempenho. Para a interação genótipo x ambiente, o local que teve melhor desempenho, dentre a maioria das análises, foi Victor Graeff/RS (Tabela 19). Considerando-se os resultados não satisfatórios, nenhum local teve destaque, porém para tratamento, foi observado desempenho insatisfatório para a cultivar MN 610 (Tabela 9).

Borowsky (2012) analisou o desempenho das cultivares BRS Elis, BRS Cauê, MN 743, MN 610, Scarlett, em quatro locais de cultivo, quanto à qualidade de malte e observou que Victor Graeff/RS apresentou as melhores médias para as variáveis analisadas.

As variáveis de micromalteação são, em sua maioria, correlacionadas entre si. Segundo Fox et al. (2003), por exemplo, valores elevados de proteínas possuem correlação negativa com teores de carboidratos influenciando o extrato, fazendo com que seja necessário dispendir mais tempo no processo de malteação e consequentemente aumento dos custos industriais (KUNZE, 2006).

Conforme mencionado por Borowsky (2012), o desenvolvimento de uma cultivar que reúna de forma equilibrada e satisfatória todos as variáveis para qualidade de malte é o foco de todo melhorista. Porém, as variáveis ambientais e genéticas que limitam este objetivo são diversas. Associado a isso, ressalta-se que todas as características avaliadas são determinadas por vários genes, apresentando herança quantitativa e fortemente influenciados pelo ambiente, condição esta que dificulta o melhoramento da cevada para

as características de qualidade de malte (RAMALHO et al., 2004; FALCONER, 1981; PATERSON et al., 1991).

As interações de genótipo x ambiente são complexas e influenciam diretamente nas características fenotípicas da cultura por se tratarem de um fenômeno biológico, genético, que envolve a regulação de genes modulados pelos fatores externos e interações de moléculas que atuam na sinalização celular. Portanto, conhecer melhor a interação genótipo x ambiente permite aos melhoristas explorar seus efeitos benéficos e contornar seus efeitos indesejáveis no trabalho de avaliação e indicação de cultivares (RAMALHO, 2001).

Além do mencionado, e conforme Muñoz-Amatriaín et al. (2010), ainda não existe definição única para a qualidade de malte, uma vez que tanto as práticas de malteação, como as de melhoramento genético, variam em todo o mundo. Além disso, pelo fato do grande número de variáveis que contribuem para a qualidade de malte estar inter-relacionados, a compreensão inicial do controle genético está apenas começando a emergir.

Tabela 19 - Desempenho dos melhores locais e genótipos para os variáveis de qualidade de malte analisados. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013

Variável de malteação	Local	Genótipo
Extrato fino	Guarapuava	PFC 2007057
Viscosidade	Victor Graeff	BRS Brau / BRS Korbel
Teor de proteínas	Teixeira Soares	BRS Brau /BRS Elis/ Scarlett/BRS Korbel
Nitrogênio solúvel	Candói, Guarapuava	BRS Cauê/ MN 610 / PFC 2007057/ PFC 2007103
Índice de Kolbach	Bagé	PFC 2007057
β -glucanos	Victor Graeff	BRS Brau /BRS Cauê/ BRS Elis/ PFC 2007020/ PFC 2007103/BRS Korbel
α -amilase	Bagé, Victor Graeff	BRS Brau /BRS Cauê/ MN 6021/ Scarlett/ PFC 2007052/ PFC 2007057/ PFC 2007103
Poder diastático	Todos os locais	Todos os genótipos
FAN	Bagé, Victor Graeff, Passo Fundo	BRS Brau /BRS Cauê/BRS Korbel

4.2 Micromalteação, marcadores moleculares genômicos e diversidade genética

Os genótipos também foram avaliados e agrupados de acordo com a sua diversidade genética, por meio da análise da distância Euclidiana, visando identificar os genótipos mais próximos e com isso poder auxiliar em programas de melhoramento genéticos futuros, principalmente no momento de seleção dos parentais para os cruzamentos e retrocruzamentos.

Para a análise diversidade genética foram selecionadas somente as características de micromalteação que apresentaram significância tanto do genótipo quanto do da ambiente, ou seja, índice de Kolbach, β -glucanos, α -amilase, e poder diastático. As variáveis que sofreram variação apenas do local foram descartados desta análise, uma vez que o foco foi abordar os aspectos genotípicos. Para tal, foram realizadas análises conjuntas com os resultados obtidos da micromalteação com das análises moleculares utilizando os 16 marcadores microssatélites genômicos que apresentaram polimorfismo dentre os 56 testados (Apêndice 1).

Primeiramente, foi gerada a matriz da distância genética (Tabela 20) considerando os resultados da micromalteação e seu respectivo dendrograma (Figura 5) seguido da matriz dos dados moleculares (Tabela 21) e do seu dendrograma (Figura 6), buscando-se uma relação entre estas análises.

Para relacionar dados genotípicos e fenotípicos, todos os métodos estatísticos já propostos podem ser eficazes, porém há um consenso em geral de que a análise conhecida como "modelo misto",

que se baseia em utilizar várias ferramentas, ainda é melhor para este tipo de investigação (YU et al., 2006).

Comparando-se os dois dendrogramas com os seus respectivos pontos de corte, verifica-se a formação de três grandes grupos considerando o dendrograma que comparou os genótipos através dos dados de micromaltação (Figura 5) e cinco grupos no dendrograma que comparou os genótipos através dos dados de marcadores moleculares (Figura 6). Os agrupamentos podem ser comparados na Tabela 22 que também sinaliza os genótipos presentes nos mesmos grupos em cada dendrograma.

Analisando a Tabela 22, observou-se que as cultivares BRS Brau, BRS Cauê, BRS Elis, MN 743 e a linhagem PFC 2007020 ocuparam os mesmos grupos independentes do dendrograma. Porém, o dendrograma obtido através de dados moleculares indica a formação de dois grupos a mais que o dendrograma obtido através de dados de micromaltação.

Tabela 20 - Matriz de distância genética Euclidiana a partir dos variáveis de micromalteação índice de Kolbach, β -glucanos, α -amilase, e poder diastático nos genótipos de cevada. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014

Genótipos	BRS Brau	BRS Cauê	BRS Elis	MN 610	MN 743	MN 6021	Scarlett	PFC 2007020	PFC 2007052	PFC 2007057	PFC 2007103	BRS Korbelt
	BRS Brau	0										
BRS Cauê	2.3	0										
BRS Elis	2.2	4.0	0									
MN 610	5.0	2.8	2.8	0								
MN 743	4.0	1.7	1.8	1.0	0							
MN 6021	3.1	8.3	8.7	1.9	8.8	0						
Scarlett	2.3	6.0	1.0	2.7	1.7	7.7	0					
PFC 2007020	1.5	8.2	7.8	3.6	2.5	1.7	8.8	0				
PFC 2007052	4.0	1.7	1.7	1.1	6.0	8.2	1.6	2.5	0			
PFC 2007057	4.0	1.7	1.7	1.1	2.3	8.7	1.6	2.5	5.4	0		
PFC 2007103	3.6	1.4	1.4	1.4	3.5	5.3	1.3	2.2	2.9	3.4	0	
BRS Korbelt	2.0	2.1	2.0	4.8	3.8	2.9	2.1	1.2	3.7	3.8	3.4	0

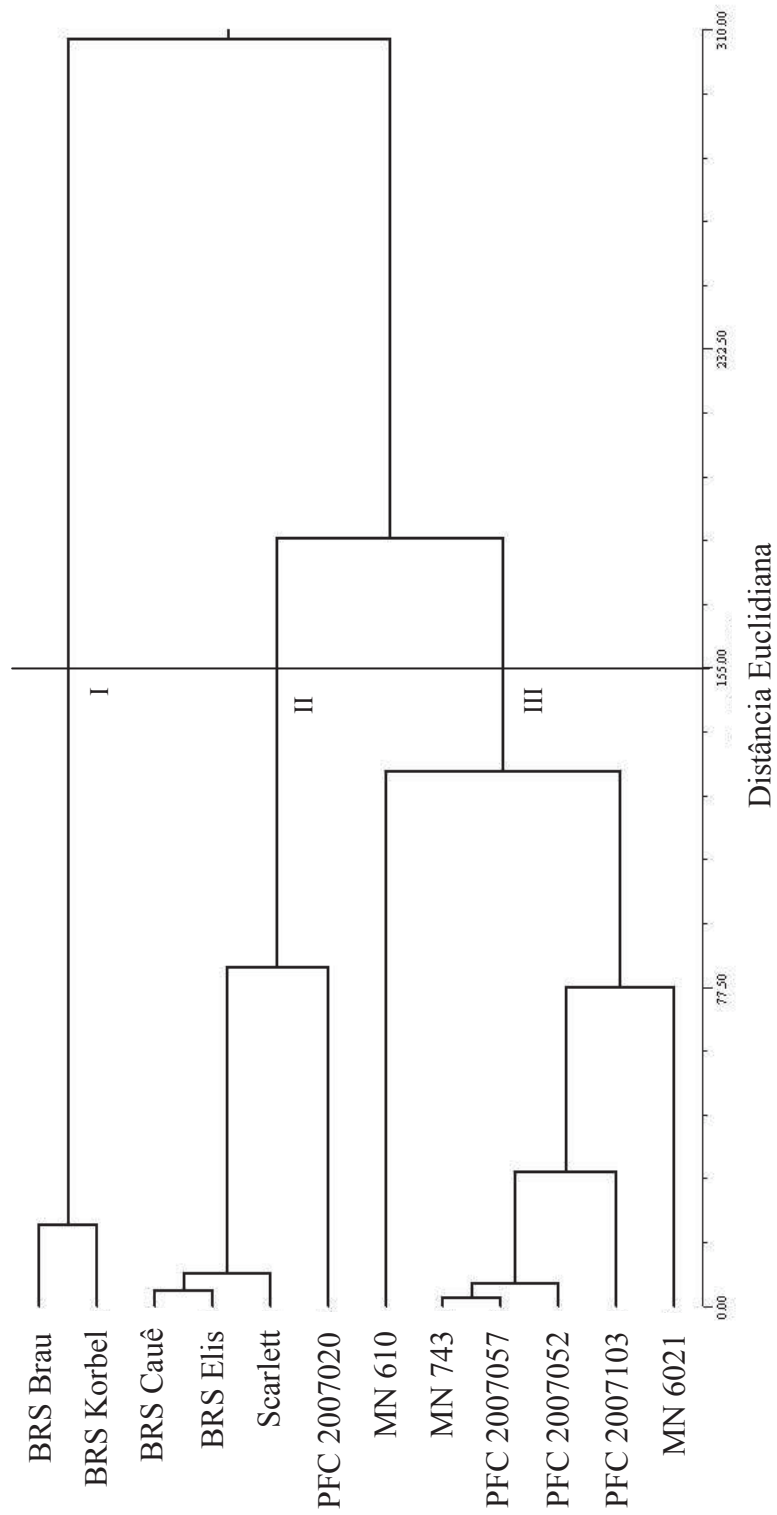


Figura 5 – Dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA baseado na distância Euclidiana para as variáveis de micromalteação: índice de Kolbach, β -glucanos, α -amilase e poder diastático nos genótipos de cevada.

Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014

Tabela 21 – Matriz de distância genética de Nei 72 para os marcadores moleculares microsattelites genômicos nos genótipos de cevada, Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014

Genótipos	BRS Brau		BRS Cauê		BRS Elis		MN 610		MN 743		MN 6021		Scarlett		PFC 2007020		PFC 2007052		PFC 2007057		BRS Korbelt		
	Brau	0	Cauê	0	Elis	0	610	0	743	0	6021	0	Scarlett	0	2007020	0	2007052	0	2007057	0	2007103	0	
BRS Brau	0																						
BRS Cauê	3.5	0																					
BRS Elis	5.9	3.2	0																				
MN 610	4.0	4.0	4.6	0																			
MN 743	6.3	5.3	6.9	6.0	0																		
MN 6021	9.1	7.8	6.1	5.3	5.5	0																	
Scarlett	4.3	6.1	4.8	5.9	9.7	5.5	0																
PFC 2007020	5.9	2.5	3.0	3.0	6.9	3.5	6.7	0															
PFC 2007052	9.4	6.9	4.6	7.8	8.1	6.1	6.7	7.5	0														
PFC 2007057	3.7	1.5	1.4	3.2	6.6	4.0	4.6	8.4	5.2	0													
PFC 2007103	5.7	3.7	4.3	3.2	5.7	3.1	9.1	1.2	7.5	2.2	0												
BRS Korbelt	6.3	6.3	5.9	6.0	8.9	1.2	9.7	8.1	6.9	3.8	8.3	0											

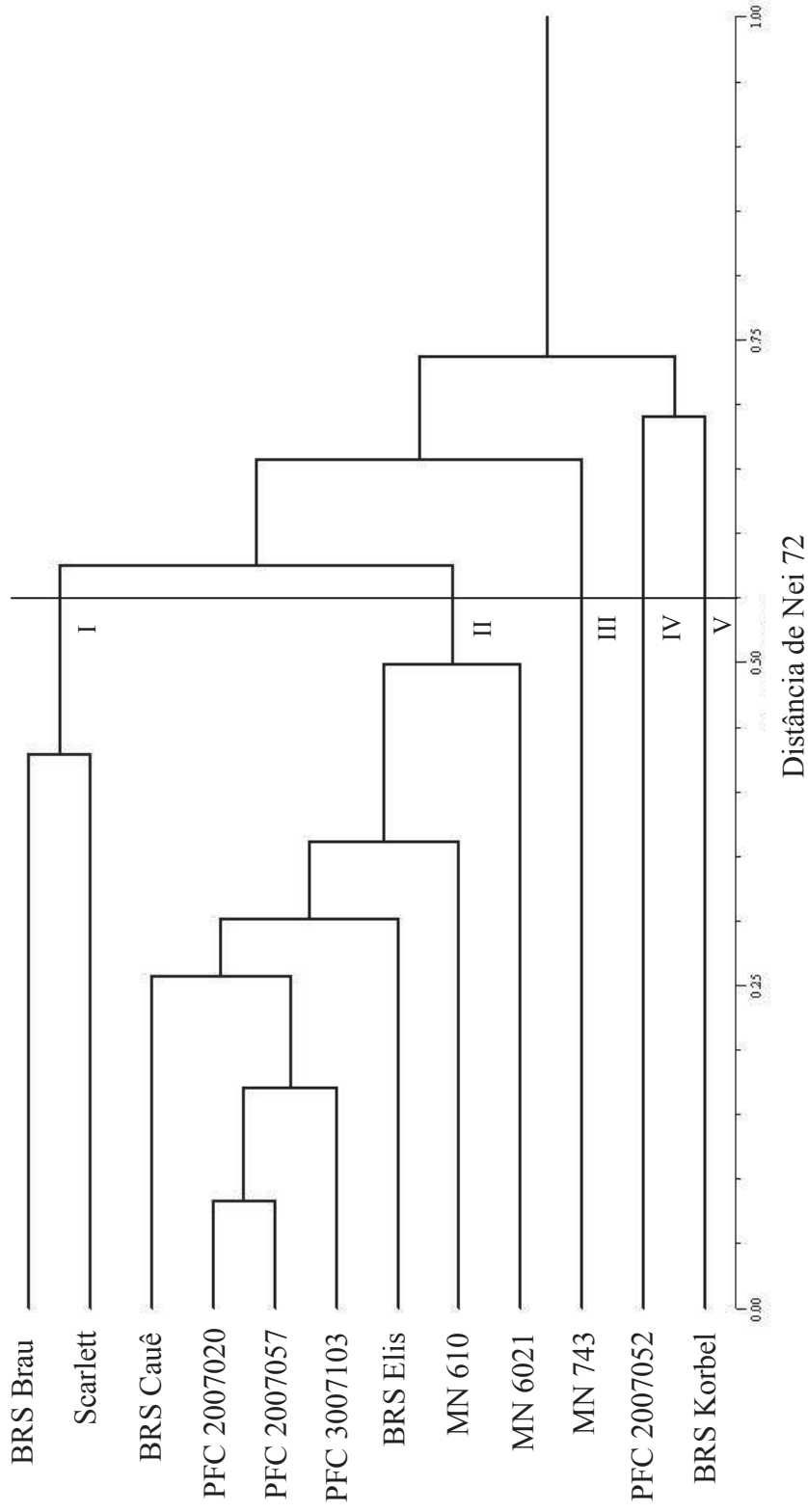


Figura 6 – Dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA baseado na distância de Nei 72 para os marcadores microsatélites genômicos nos genótipos de cevada. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014.

Tabela 22 – Distribuição dos genótipos através dos grupos formados no dendrogramas de micromalteação e no dendrograma de marcadores moleculares . Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014

Grupos nos dendrogramas		
Genótipos	Malteação	Molecular
BRS Brau	I	I
BRS Cauê	II	II
BRS Elis	II	II
MN 610	III	II
MN 743	III	III
MN 6021	III	II
Scarlett	II	I
PFC 2007020	II	II
PFC 2007052	III	IV
PFC 2007057	III	II
PFC 2007103	III	II
BRS Korbel	I	V

Em negrito: genótipos que se encontram no mesmo grupo entre os dois dendrogramas

A partir deste dados, podemos inferir que as informações obtidas através de marcadores moleculares são mais específicas para identificar a diversidade genética dos materiais do que as informações obtidas através da micromalteação. A maior porção de variação entre os genótipos foi, provavelmente, decorrente do elevado nível de polimorfismo dos marcadores utilizados como já relatado em estudos desenvolvidos em outras culturas (PRIOLLI et al., 2004).

A domesticação e seleção de cevada acumularam alelos favoráveis em múltiplos loci que determinam a qualidade de malte. Muitos dos determinantes destes componentes, como a atividade α -amilase são conhecidos. No entanto, as pesquisas ainda estão em

processo de desenvolvimento de uma compreensão abrangente de como os determinantes individuais interagem para determinar os fenótipos finais. Em termos de diversidade genética para estes variáveis, ainda há que se desenvolverem muitos estudos quanto aos alelos que determinam essas características. Assim sendo, os alelos específicos que foram acumulados nos principais grupos de germoplasma de cevada podem ser diferentes, com base em preferências regionais e deriva genética (HAYES et al., 2003).

Ganhos genéticos relativamente baixos para qualidade de malte podem ocorrer devido à baixa média de herdabilidade dos caracteres (HAN et al., 1997). O exemplo disso, são estudos realizados por Kaeppler & Rasmusson (1991) que mostram resultados onde a herdabilidade para os genes que codificam a atividade da α -amilase, variam de 37 a 65% a partir de progênies F_2 e F_5 , respectivamente. Estes dados confirmam as afirmações de Hayes et al. (2003) e Ullrich et al. (1997), onde abordam que quantificar as variações características de qualidade de malte é um processo difícil e trabalhoso devido à herança complexa deste tipo de fenótipo.

No dendrograma obtido pelos marcadores moleculares (Figura 6) observou-se que alguns genótipos com parentais próximos ou iguais em sua genealogia (Tabela 4) foram agrupados com menor distância, resultado que já era esperado.

Diversos estudos têm sido desenvolvidos usando marcadores microssatélites associados às características morfológicas para aprofundar o conhecimento da diversidade genética em genótipos de trigo (LUBBERS et al., 1991; DVORAK et al., 1998; PESTSOVA et al., 2000; SAEIDI et al., 2006; TAHERNEZHAD et al., 2010).

Kashi & Soller (1998) sugeriram que alguns microssatélites estariam associados à codificação de proteínas e também ao processo de transcrição em muitos organismos. Outros estudos sugerem que vários locos microssatélites em soja, por exemplo, apresentaram associação com genes de resistência a fungos e nematoides (PALMER et al., 1992; MIAN et al., 1999; SCHUSTER et al., 2001; FRONZA, 2003). Entretanto, segundo Semagn (2002), a maioria dos estudos nesta área encontraram dificuldades em relacionar dados morfológicos com dados genéticos nos casos em que foi usado um número restrito de marcadores moleculares. Porém, nos casos em que foi usado um expressivo número de marcadores, se tornou possível uma cobertura mais abrangente do genoma e com isso uma correlação igualmente mais eficiente dos dados.

Portanto, para o início de um estudo que visa relacionar caracteres morfológicos a marcadores moleculares com o intuito de observar a diversidade, se faz necessário o uso de marcadores microssatélites distribuídos aleatoriamente e de forma abrangente em todo o genoma para melhor diferenciar os genótipos (TAHERNEZHAD et al., 2010).

4.3 Micromalteação, marcadores moleculares associados à qualidade de malte e diversidade genética

Dentre os marcadores moleculares microssatélites polimórficos, identificados neste estudo, nove foram selecionados por estarem associados à qualidade de malte, segundo bibliografia consultada (Apêndice 2). Do mesmo modo que as análises anteriores,

também foram comparados os resultados de micromalteação para os variáveis que sofreram influência do genótipo com os resultados dos marcadores microssatélites específicos. Neste caso, a Tabela 24 apresenta a matriz obtida, a Figura 7 o dendrograma gerado e a Tabela 25 a comparação dos genótipos quanto aos grupos formados no dendrograma.

A partir da análise dos nove marcadores moleculares específicos, houve a formação de cinco grupos distintos, onde observa-se que para os dados fenotípicos os genótipos que se destacaram em qualidade apareceram nos mesmos grupos, bem como tiveram a mesma formação na análise genotípica, exceto o genótipo PFC 2007057 que é distinto em genealogia das demais pelo parental Barke. Conforme verificado nas Tabelas 22 e 25, os genótipos BRS Brau, BRS Cauê, BRS Elis e PFC 2007020 se mantiveram nos mesmos grupos. Porém, a cultivar MN 743 não apresentou relação com os dados de micromalteação quando os marcadores foram selecionados para qualidade. Já a cultivar BRS Korbel não apresentou relação com algum grupo do dendrograma de micromalteação, quando os marcadores estavam associados à qualidade de malte, apresentou relação entre os dendrogramas (Tabela 22).

Tabela 23 - Matriz de distância genética de Nei 72 para os marcadores microsatélites associados à qualidade de malte nos genótipos de cevada. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014

Genótipos	BRS Brau	BRS Cauê	BRS Elis	MN 610	MN 743	MN 6021	Scarlett	PFC 2007020	PFC 2007052	PFC 2007057	PFC 2007103	BRS Korbel
	0	5.1	0	6.0	3.1	0	4.0	5.9	6.9	0	8.7	0
BRS Brau	0											
BRS Cauê	5.1	0										
BRS Elis	6.0	3.1	0									
MN 610	4.0	5.9	6.9	0								
MN 743	9.2	9.7	7.8	8.1	0							
MN 6021	1.2	1.2	7.9	1.0	9.1	0						
Scarlett	4.5	6.0	5.4	6.9	1.0	4.5	0					
PFC 2007020	7.8	3.1	4.0	5.0	1.0	4.5	6.9	0				
PFC 2007052	1.0	7.8	2.9	9.1	1.3	7.9	5.4	8.7	0			
PFC 2007057	3.9	1.4	1.4	5.5	9.5	5.6	3.6	1.4	5.0	0		
PFC 2007103	5.9	4.0	5.0	4.0	1.1	5.8	9.1	1.0	1.2	2.6	0	
BRS Korbel	5.1	6.9	4.5	5.9	9.2	1.6	1.0	1.0	1.0	5.5	8.1	0

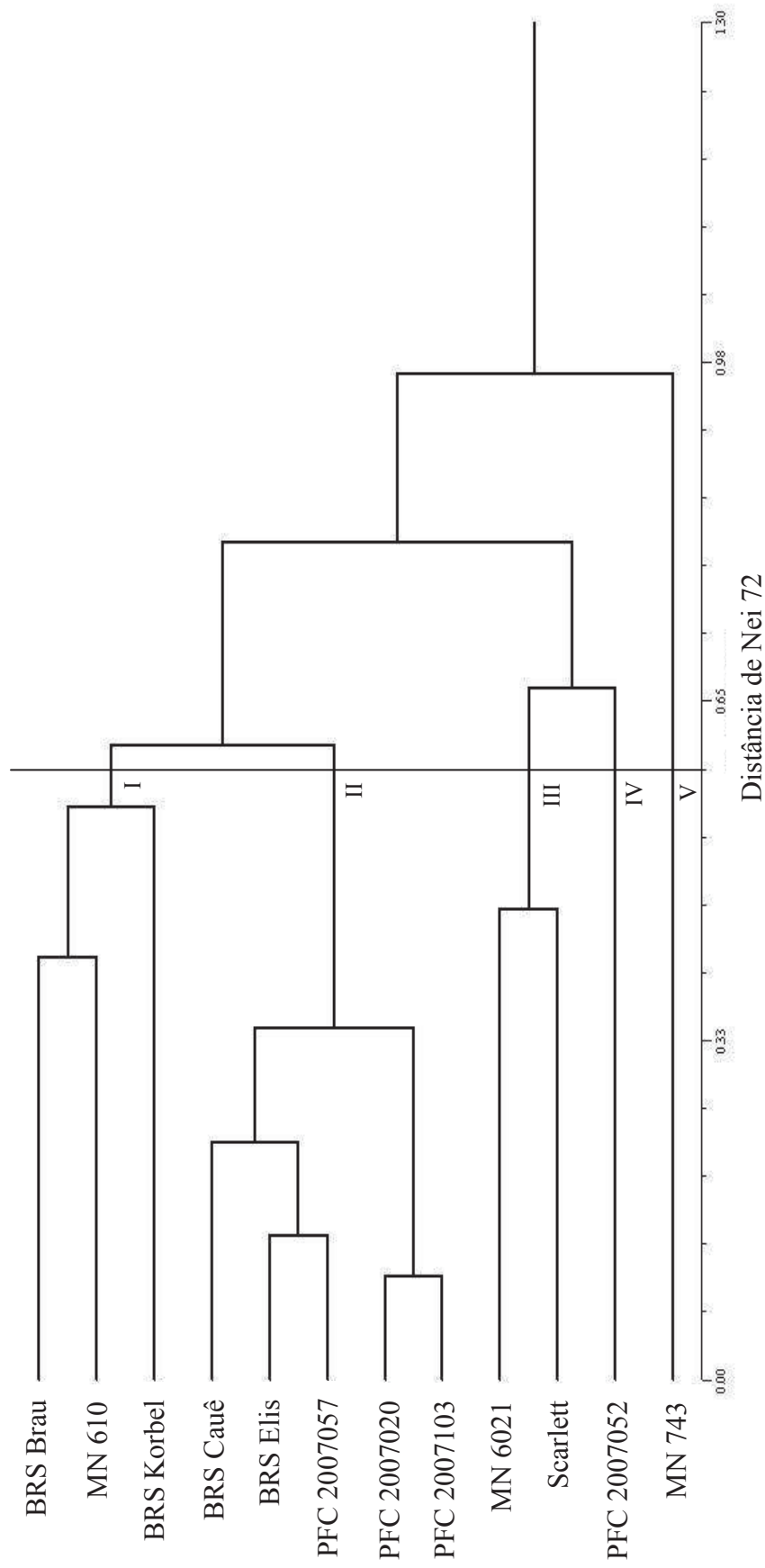


Figura 7 - Dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA baseado na distância de Nei 72 para os marcadores microsatélites associados à qualidade de malte nos genótipos de cevada. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014.

Tabela 24 – Distribuição dos genótipos através dos grupos formados no dendrogramas de micromalteação e no dendrograma de marcadores microssatélites para qualidade de malte. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014

Grupos nos dendrogramas		
Genótipos	Malteação	Molecular
BRS Brau	I	I
BRS Cauê	II	II
BRS Elis	II	II
MN 610	III	I
MN 743	III	V
MN 6021	III	III
Scarlett	II	III
PFC 2007020	II	II
PFC 2007052	III	IV
PFC 2007057	III	II
PFC 2007103	III	II
BRS Korbel	I	I

Em negrito: genótipos que se encontram no mesmo grupo entre os dois dendrogramas

Observa-se, pelas análises de micromalteação (Tabela 8), que as cultivares BRS Brau, BRS Korbel apresentaram os melhores valores para qualidade e ambas são apresentadas na Tabela 25 com grupos pareados entre dados fenotípicos e genotípicos. Da mesma forma BRS Cauê, BRS Elis e PFC 2007020 apresentaram níveis satisfatórios para as quatro variáveis de malte considerados nesta análise. Cabe ressaltar que as cultivares BRS Brau e BRS Korbel têm a cultivar BRS 195 como genitor em comum que se caracteriza por apresentar um perfil de qualidade de malte, a qual atende a maioria das especificações da indústria cervejeira (EMBRAPA TRIGO, 2014c).

Mapas genéticos detalhados estão se tornando cada vez mais importantes na pesquisa genética teórica e aplicada. Entretanto, a construção de mapas genéticos de cevada com SSRs tem sido dificultada pelo polimorfismo limitado (>30%) que é tipicamente encontrado em cruzamentos derivados de germoplasma cultivado (ABLETT et al., 2003). Este problema foi parcialmente tratado pela geração de mapas compostos, construídos a partir de várias populações mapeadas para melhorar a cobertura do genoma (ABLETT et al., 2003; KARAKOUSIS et al., 2003; ROSTOKS et al., 2005; WENZL et al., 2006). No entanto, a ordem dos loci pode ser difícil de estabelecer, quando o número de marcadores comuns entre mapas individuais é restrito. Essa ambiguidade é uma limitação para certos tipos de análises genéticas, tais como o desequilíbrio de mapeamento de ligação e estudos do genoma completo (HEARNDEN et al., 2007).

Segundo Paux et al. (2012), a associação fenotípica com marcadores moleculares pode se tornar muito eficiente se considerar que os dados fenotípicos históricos podem ser utilizados para criar conjuntos de dados, e assim o único custo adicional entre análises de fenótipo/genótipo seria a análise molecular. Estes resultados são diretamente aplicáveis em um programa de melhoramento permitindo a seleção imediata dos genótipos utilizando marcadores.

Segundo Heffner et al. (2009), no início dos anos 1990, a seleção assistida por marcadores ainda era considerada uma ferramenta muito onerosa para os programas de melhoramento e em vista disso, esta ferramenta era pouco

utilizada. Porém, atualmente estes custos diminuíram muito e têm facilitado a genotipagem em grande escala em programas de melhoramento.

Neste contexto, várias iniciativas públicas objetivando o mapeamento genético de genes de importância agronômica, via marcadores moleculares diversos, estão em andamento. Exemplos bem sucedidos são o AGOUEB projeto em cevada (WAUGH et al., 2010), o Triticeae Genome em trigo e Cornell Panel para linhagens de milho (FLINT-GARCIA et al., 2005). Essas iniciativas demonstram a importância e o potencial destas ferramentas moleculares como auxílio nos programas de melhoramento genético.

O impacto econômico do uso de marcadores moleculares é destacado pela Monsanto Company) que informou que, de 2000 a 2006, a empresa constatou diminuição de seis vezes no custo por marcador molecular e, desta forma, pode aumentar em quarenta vezes o volume dados visando maior eficiência no seu programa de melhoramento genético (EATHINGTON et al, 2007).

Deste modo, o emprego de marcadores moleculares junto aos programas de melhoramento, torna-se cada vez mais presente nas inúmeras instituições de pesquisa. Para a seleção assistida em cevada, o presente estudo levantou dados sobre valores em reais (R\$, moeda local) com o objetivo de elucidar que dentro de um programa de melhoramento o custo/benefício desta ferramenta não é mais tão oneroso, principalmente se for considerado o aumento e a disponibilidade de empresas que prestam serviços de análises moleculares (Tabela 25).

Tabela 25 – Custo para a prestação de serviços de micromalteação e análises genéticas via marcadores moleculares. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014

Prestação de serviços	Valor médio por genótipo/amostra
Micromalteação (09 variáveis)	R\$ 100,00*
Extração de DNA + análise com marcador SSR via eletroforese em agarose	R\$ 44,00
Extração de DNA + análise com marcador SSR via eletroforese capilar	R\$ 83,50

* Sem acréscimo de transporte internacional.

Os dados obtidos no presente estudo podem ser utilizados de imediato nos programas de melhoramento. Cabe ao melhorista avaliar e escolher adequadamente o método empregado quanto à diversidade e especificidade genética para a qualidade, otimizando o programa de melhoramento genético, e diminuindo o período de tempo necessário na escolha dos parentais, uma vez que estes são selecionados com mais eficiência com base não só no fenótipo como também no genótipo.

Contudo, o potencial de informações que as análises fenotípicas, associadas a marcadores moleculares pode gerar para um programa de melhoramento ainda não foi plenamente elucidado, sendo que o presente estudo foi um passo inicial nesta vasta área da genética e melhoramento de plantas.

5 CONCLUSÕES

- As características de micromalteação de todos os genótipos são altamente influenciadas pelo ambiente, embora para as variáveis índice de Kolbach, β -glucanos, α -amilase e poder diastático há também influência da interação genótipo x ambiente, considerando-se o ano de 2012, em diferentes locais no estado do Paraná e Rio Grande do Sul;
- Os genótipos que apresentam melhor desempenho baseado em dados fenotípicos para qualidade de malte foram BRS Brau, PFC 2007057, BRS Elis e Scarlet, sendo Victor Graeff/RS o local que apresenta melhores condições ambientais para a expressão das variáveis;
- No ano de cultivo do presente trabalho, as cultivares brasileiras apresentam qualidade de malte superiores a cultivar padrão internacional Scarlett, fator este que demonstra um grande avanço no melhoramento nacional;
- A distância genética entre os genótipos de cevada, observada através de análises conjuntas de micromalteação e dezesseis marcadores moleculares genômicos demonstram que cinco dos doze genótipos analisados (BRS Brau, BRS Cauê, BRS Elis, MN 743 e PFC 2007020) encontram-se no mesmo grupo tanto na análise fenotípica quanto genotípica. A distância observada através de marcadores moleculares subdivide em mais grupos do que através dos resultados de micromalteação, o que demonstra maior especificidade dos dados. Estas análises podem orientar futuros cruzamentos visando qualidade de malte;

- As cultivares BRS Brau, BRS Korbel apresentam os melhores valores para qualidade de malte dentre os variáveis que sofreram influência do genótipo. Ambas cultivares demonstram pareamento entre dados fenotípicos e genotípicos quando considerados somente os nove marcadores moleculares avaliados e associados à qualidade de malte.

REFERÊNCIAS

AASTRUP, S.; ERDAL, K. Quantitative Determination of endosperm Modification and its Relationship to the content of 1,3:1,4- β -Glucans during Malting of Barley. *Carlsberg Research Communication*, Copenhagen, v. 45, n. 5, p. 369-379, 1980.

ABLETT, G. A.; KARAKOUSIS, A.; BANBURY, L.; CAKIR, M.; HOLTON, T. A.; LANGRIDGE, P.; HENRY, R. J. Application of SSR markers in the construction of Australian barley genetic maps. *Australian Journal of Agricultural Research*, Collingwood, v. 54, n. 12, p. 1187-1195, 2003.

AHOKAS, H.; NASKALI, L. Geographic variation of α -amylases, β -amylases, β -glucanase, pullunase and chitinase activity in germinating *Hordeum spontaneum* barley from Israel and Jordan. *Genetica*, Geneva, v. 82, n. 2, p. 73-78, 1990.

AMABILE, R. F.; MINELLA, E. GUERRA, A. F.; SILVA, D. B. da; ALBRECHT, J. C.; ANTONIAZZI, N. BRS Deméter: nova cultivar de cevada cervejeira irrigada para o Cerrado do Brasil Central. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 43, n. 9, p. 1247-1249, 2008.

AMARAL JÚNIOR, A. T. do. Divergência genética entre acessos de moranga do banco de germoplasma de hortaliças da Universidade Federal de Viçosa. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 17, p. 3-6, 1999. Suplemento.

AMERICAN SOCIETY OF BREWING CHEMISTS - ASBC. *Methods of analysis of the American Society of Brewing Chemists*. 6 ed. Madison: American Society of Brewing Chemists, 1958. 209 p.

ÁRIAS, G. *Mejoramiento genético y producción de cebada cervecera en América del Sur*. Santiago: FAO, 1995. 157 p.

ASPEGREN, K.; MANNONEN, L.; RITALA, A.; PUUPPONEN-PIMI, R.; KURTEN, U.; SALMENKALLIO-MARTTILA, M.; VELI KAUPPINEN, V.; TEERI, T. H. Secretion of a heat-stable fungal β -glucanase from transgenic,

suspension-cultured barley cells. *Molecular Breeding*, Oxford, v. 11, n. 1, p. 91-99, 1995.

BAMFORTH, C. W.; BARCLAY, A. H. P. Malting Technology and the uses of malt In: MACGREGOR, A. W.; BHATTY, R. S. *Barley: Chemistry and technology*. St.Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemists, Inc., 1993. p. 297-332.

BECKMANN, J. S. Genomic genetics and plant genetic improvement. In: SCHOOK, L. B.; LEWIN, H. A.; MCLAREN, D. G. *Gene-mapping techniques and applications*. New York: Marcel Dekker Inc., 1991. p. 201-230.

BHATTY, R. S.; ROSSNAGEL, B. G. Comparison of pearled and unpearled canadian and japanese barleys. *Cereal Chemistry*, St. Paul, v. 75, n. 1, p. 15-21, 1998.

BORÉM, A. *Melhoramento de plantas*. 2 ed. Viçosa: Editora UFV, 1998. 453 p.

BORÉM, A. *Melhoramento de plantas*. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2001. 500 p.

BORÉM, A.; GIÚDICE, M. *Biotechnology e meio ambiente*. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2008. 510 p.

BOROWSKI, D. Z. *Efeito do genótipo, ambiente e suas interações em características agronômicas e de qualidade em cevada cervejeira no sul do Brasil*. 2012. 106 f. Dissertação. (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2012.

BOTHMER, R. V.; JACOBSEN, N.; BADEN, C.; JORGENSEN, R. B.; LINDE-LAURSEN, I. *An Ecogeographical study of genus Hordeum*. 2. ed. Rome: IPGRI, 1995. 129 p.

BRAMMER, S. P. *A citogenética na caracterização genômica do trigo*. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2003. (Embrapa Trigo. Documentos Online, 31).

BRENNAN, C. S.; HARRIS, N.; SMITH, D.; SHEWRY, P. R. Structural differences in the mature endosperms of good and poor malting barley cultivars. *Journal of Cereal Science*, Manhattan, v. 24, n. 2, p. 171-177, 1996.

CAIERÃO, E. Cevada. In: BARBIERI, R. L. *Origem e evolução de plantas cultivadas*. 1 ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p. 289-310.

CARGNIN, A.; SOUZA, M. A. DE.; CARNEIRO, P. C. S.; SOFIATTI, V. Interação entre genótipos e ambientes e implicações em ganhos com seleção em trigo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 41, n. 6, p. 987-993, 2006.

CASTRO, A.; CAMMAROTA, L.; GOMEZ, B.; GUTIERREZ, L.; HAYES, P. M.; LOCATELLI, A.; MOTTA, L.; PIERONI, S. Genome-Wide Association Mapping of Malting Quality Traits in Relevant Barley Germplasm in Uruguay. In: ADVANCE IN BARLEY SCIENCES, 11. 2013, China. *Proceeding of 11th international barley genetics symposium*. Hangzhou: Zhejiang University Press, 2013, p. 37-46.

CERVBRASIL (Associação Brasileira da Indústria da Cerveja). *A contribuição econômica da cerveja*. Disponível em: <<http://www.cervbrasil.org.br/a-cerveja/contribuicao-economica/>>. Acesso em 25 Jan. 2014.

CHAPMAN, S. R.; CARTER, L. P. *Crop production: principles and practices*. San Francisco: Montana State University, 1976. 566 p.

CORRELL, R.; BUTLER, J.; SPOUNCER, L.; WRIGLEY, C. The relationship between grain-protein content of wheat and barley and temperatures during grain filling. *Australian Journal of Plant Physiology*, Melbourne, v. 21, n. 6, p. 869-873, 1994.

DAL RI, G. S.; ROCHA, N. T. F.; VOLPI, R. A. *O processo de malteação – Companhia cervejaria BRAHMA*. Porto Alegre: Maltaria Navegantes, 1995. 124 p.

DIAS, D.C. Maturação de sementes. *Seed News*, Guelph, v. 5, n. 6, p. 3-4, 2001.

DEVOS, K. M.; GALE, D. Genome relationships: the grass model in current research. *Plant Cell*, Rockville, v. 12. n. 5, p. 637-646, 2000.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissues. *Focus*, Rockville, v. 12. n. 1, p. 13-15, 1990.

DVORAK, J.; LUO, M. C.; YANG, Z. L.; ZHANG, H. B. The structure of *Aegilops tauschii* genepool and the evaluation of hexaploid wheat. *Theoretical Applied Genetics*, Stuttgart, v. 97, n. 4, p. 657-670, 1998.

EATHINGTON, S. R.; CROSBIE, T. M.; EDWARDS, M. D.; REITER, R. S.; BULL, J. K. Molecular markers in a commercial breeding program. *Crop Science*, Madison, v. 47, n. 3, p. 154-163, 2007.

EHRENBERGEROVÁ, J.; BELCREDI, N. B.; PSOTA, V.; HRSTKOVÁ, P.; CERKAL, R.; NEWMAN, C. W. Changes Caused by Genotype and Environmental Conditions in Beta-Glucan Content of Spring Barley for Dietetically Beneficial Human Nutrition. *Plant foods for human nutrition*, New York, v. 63, n. 3, p. 111-117, 2008.

EMBRAPA TRIGO. *Catálogo de produtos e serviços: Cevada*. Disponível em: <<http://www.cnpt.embrapa.br/culturas/cevada/index.html>>. Acesso em: 6 Jan. 2014^a.

EMBRAPA TRIGO. *Cevada em números*. Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/pesquisa/economia/2014_01_CEVADA%20em%20numeros.pdf> Acesso em: 10 Fev. 2014^b.

EMBRAPA TRIGO. *BRS 195*. Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/culturas/cevada/cultivares/brs_195.pdf> Acesso em: 15 Fev. 2014^c.

EMEBIRI, L.; MICHAEL, P.; MOODY D. B. OGBONNAYA, F. C.; BLACK, C. Pyramiding QTLs to improve malting quality in barley: gains in phenotype and genetic diversity. *Molecular Breeding*, Oxford, v. 23, n. 2, p. 219-228, 2009.

EUROPEAN BREWERY CONVENTION. *Analytica* - EBC. 4. ed. Zurique: Brauerei-und Getränke - Rundschau, 1987. 271 p.

EUROPEAN BREWERY CONVENTION. *Analytica* - EBC. Nurnberg: verlang hans carl, getränke – fachverlag, Germany, 1997.

FALCONER, D. S. *Introdução à genética quantitativa*. Viçosa: Editora UFV, Imprensa Universitária, 1981. 279 p.

FASTNAUGHT, C. E.; BERGLUND, P. T.; HOLM, E. T.; FOX, G. J. Genetic and environmental variation in β -glucan content and quality parameters of barley for food. *Crop Science*, Madison, v. 36, n. 4, 941-946, 1996.

FEDERIZZI, L. C. Estrutura de um programa de melhoramento de plantas e possíveis aplicações de marcadores moleculares: visão do melhorista. In: MILACH, S. C. K. *Marcadores moleculares em plantas*. Porto Alegre: UFRGS, 1998. p. 3-15.

FLINT-GARCIA, S. A.; THUILLET A. C.; YU, J.; PRESSOIR, G.; ROMERO, S. M.; SHARON E.; MITCHELL, S. E.; DOEBLEY, J.; STEPHEN KRESOVICH, S.; MAJOR M.; GOODMAN, M. M.; BUCKLER, E. S. Maize association population: a high-resolution platform for quantitative trait locus dissection. *The Plant Journal*, Malden, v. 44, n. 6, p. 1054-64, 2005.

FOSTER, A. E. Barley. In: FEHR, W. R. *Principles of cultivar development: Theory and techniques*. New York: MacMillan Publishing Company, 1987. p. 83-125.

FOX, G. P.; PANOZZO, J. F.; LI, C. D.; LANCE, R. C. M.; INKERMAN, P. A.; HENRY, R. J. Molecular basis of barley quality. *Australian Journal of Agricultural Research*, Collingwood, v. 54, n. 12, p. 1081-1101, 2003.

FOX, G. P. *Biochemical and molecular evaluation of quality for malt and feed barley*. 2008. 179 f. PhD thesis (Doctorate of Philosophy) – Southern Cross University. Lismore, 2008.

FOX, G. P. Chemical composition in barley grains and malt quality. In: ZHANG, G.; LI, C. (Ed.). *Genetics and*

improvement of barley malt quality. Hangzhou: Zhejiang University Press and Springer, 2010. p. 63-98.

FREITAS, L. B.; BERED, F. (Org.). *Genética e Evolução Vegetal*. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2003. 463 p.

FRONZA, V. *Genética da reação da soja a Fusarium solani f. sp. Glycines*. 2003. 154 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

FULCHER, R. G.; IRVING, D. W.; DE FRANCISCO, A. Fluorescence microscopy: applications in food analysis. In: MUNCK, L.; de FRANCISCO, A. *Fluorescence Analysis in Foods*. U K: Longman Scientific and Technical, 1989. p. 59-109.

GALLANT, D. J.; MONREDON, F. de; BOUCHET, B.; TACON, P.; DELORT-LAVAL, J. Cytochemical study of intact and processed barley grain. In: MOLINA-CANO, J. L., BRUFAU, J. Ed. *New trends in barley quality for malting and feeding*. Zaragoza: CIHEAM, 1991. p. 31-34.

GEORG-KRAEMER, J. E.; MUNDSTOCK, E. C.; CAVALLI-MOLINA, S. Developmental expression of amylases during barley malting. *Journal of Cereal Science*, Manhattan, v. 33, n. 3, p. 279-288, 2001.

HAN, F.; ROMAGOSA, I.; ULLRICH, S. E.; JONES, B. L.; HAYES, P. M.; WESENBERG, D. M. Molecular marker-assisted selection for malting quality traits in barley. *Molecular Breeding*, Oxford, v. 3, n. 6, p. 427-437, 1997.

HARLAN, J. R.; ZOHARY, D. Distribution of wild wheats and barley. *Science*, Stillwater, v. 153, n. 3740, p.1074-1080, 1966.

HAYES, M. P.; CASTRO, A.; MARQUEZ-CEDILLO, L.; COREY, A.; HENSON, C.; JONES, L. B.; KLING, J.; DIANE MATHER, M D.; MATUS, I.; ROSSI, C.; SATO, K. Developments in Plant Genetics and Breeding. In: HINTUM, T. V.; KNÜPFER, H.; SATO, K. *Diversity in Barley (Hordeum vulgare)*. 1. ed. Elsevier: Amsterdam, 2003. p. 201-226.

HEARNDEN, P. R.; ECKERMANN, P. J.; MCMICHAEL, G. L.; HAYDEN, M. J.; EGLINTON, J. K.; CHALMERS, K. J. A genetic map of 1,000 SSR and DArT markers in a wide barley cross. *Theoretical and Applied Genetics*, Stuttgart, v. 115, n. 3, p. 383-391, 2007.

HEFFNER, E. L.; SORRELLS, M. E.; JEAN-LUC JANNINK, J. L. Genomic Selection for Crop Improvement. *Crop Science*, Madison, v. 49, n. 1, p. 1-12, 2009.

HENRY, R. J. Genetic and environmental variation in the pentosan and β -glucan contents of barley, and their relation to malting quality. *Journal of Cereal Science*, Manhattan, v. 4, n. 3, p. 269-277, 1986.

HILL, J. Genotype-environment interactions: Challenge for plant breeding. *The Journal of Agricultural Science*, Cambridge v. 85, n. 3, p. 477-493, 1975.

HOSENEY, R. C. *Principles of Cereal Chemistry and Technology*. 2. ed. St. Paul, Minnesota: American Association of Cereal chemists, Inc. 1994. 327 p.

HOUGH, J. S. *Bioteconología de la cerveza y la malta*. Zaragoza: Acribia, 1990. 194 p.

INMET (Instituto Nacional de Meteorologia) *Sobre Meteorologia*. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=home2/index>>. Acesso em: 9 Jan. 2014.

KACZMAREK, Z.; SURMA, M.; ADAMSKI, T.; JEŻOWSKI, S.; MADAJEWSKI, R.; KRYSKOWIAK, K.; KUCZYŃSKA, A. Interaction of gene effects with environments for malting quality of barley doubled haploids. *Journal of Applied Genetics*, Berlin, v. 43, n. 1, p. 33- 42, 2002.

KAEPPLER, H. F.; RASMUSSEN, D. C. Heritability, heterosis, and maternal effects of alpha-amylase activity in barley. *Crop Science*, Madison, v. 31, n. 6, p. 1452-1455, 1991.

KANG, M. S. Understanding and utilization of genotype by environment interaction in plant breeding. In: KANG, M. S. *Genotype by environment interaction and plant breeding*.

Louisiana State University Agriculture Center, Louisiana: Baton Rouge, 1990. p. 52-68.

KARAKOUSIS, A.; GUSTAFSON, J. P.; CHALMERS, K. J.; BARR, A. R.; LANGRIDGE, P. A consensus map of barley integrating SSR, RFLP, and AFLP markers. *Australian Journal of Agricultural Research*, Collingwood, v. 54, n. 12, p. 1173-1185, 2003.

KASHI, Y.; SOLLER, M. Functional roles of microsatellites and minisatellites. In: GOLDSTEIN, D. B.; SCHLÖTTERER, C. (Ed.). *Microsatellites: evolution and applications*. Oxford: Oxford University Press, 1998, p. 10-22.

KOWALSKA, M.; BICHOŃSKI, A.; BUREK, J. Wartość zagranicznych odmian jęczmienia browarnego w warunkach Polski w porównaniu z odmianami i rodami hodowli krajowej. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*, Poznan, n. 214, p. 115-127, 2000.

KUNZE, W. *Technology brewing and malting*. 2 ed. Berlin: VLB Berlin, 1999, 726 p.

KUNZE, W. *Tecnología para cerveceros y malteros*. 1. ed. Berlin: VLB, 2006. 1074 p.

LABORATÓRIO DE AGROMETEOROLOGIA DA EMBRAPA TRIGO. *Boletins Climáticos*. Disponível em: <<http://www.cnpt.embrapa.br/pesquisa/agromet/app/principal/index.php>>. Acesso em: 9 Jan. 2014.

LAPITAN, N.; HESS, A.; COOPER, B.; BOTHA, A. M.; BADILLO, D.; IYER, H.; MENERT, J.; CLOSE, T.; WRIGHT, L.; HANNING, G.; TAHIR, M.; LAWRENCE, C. Differentially expressed genes during malting and correlation with malting quality phenotypes in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, Stuttgart, v. 118, n. 5, p. 937-952, 2009.

LIU, Z. W.; BIYASHEV, R. M.; SAGHAI-MAROOF, M. A. Development of simple sequence repeat DNA markers and their integration into a barley linkage map. *Theoretical Applied Genetics*, Stuttgart, v. 93, n. 5-6, p. 869-876, 1996.

LUBBERS, E. L.; GILL, K. S.; COX, T. S.; GILL, B. S. Variation of molecular markers among geographically diverse accessions of *Triticum tauschii*. *Genome*, Ottawa, v. 34, n. 3, p. 354-361, 1991.

MACLEOD, A. M. The impact of science on malting technology. In: 16TH CONGRESS OF THE EUROPEAN BREWERY CONVENTION. 16. 1977, Amsterdam. Proceedings of the 16th congress of the european brewery convention. Clarendon: Oxford University Press. 1977. p. 63-75.

MAIA, C. C. M.; ROCHA, M. M. *Interação genótipo por ambiente: problema ou oportunidade para o melhoramento genético?* 2007. Disponível em: <<http://74.220.207.63/~agrosoft/pdf.php/?node=27180>>. Acesso em: 10 Dez. 2013.

MATHER, D. E.; TINKER, N. A.; LABERGE, D. E.; EDNEY, M.; JONES, B. L.; ROSSNAGEL, B. G.; LEGGE, W. G.; BRIGGS, K. G.; IRVINE, R. B.; FALK, D. E.; KASHA, K. J. Regions of the genome that affect grain and malt quality in a North American two-row barley Cross. *Crop Science*, Madison, v. 37, n. 2, p. 544-554, 1997.

MCFADDEN, G. I.; AHLUWALIA, B.; CLARKE, A. E.; FINCHER, G. B. Expression sites and developmental regulation of genes encoding (1-3, 1-4)- β -glucanases in germinated barley, *Planta*, Bonn, v. 172, n. 4, p. 500-508, 1988.

MEREDITH Jr., W. R. Quantitative genetics. In.: KOHEL, R. J.; LEWIS, C. E. (Eds.) *Cotton and cotton improvement*. Madison: ASACSSA, 1984. p. 131-150.

MIAN, M. A. R.; WANG, T.; PHILLIPS, D. V.; ALVERNAZ, J.; BOERMA, H. R. Molecular mapping of the *Rcs3* gene for resistance to frogeye leaf spot in soybean. *Crop Science*, Madison, v. 39, n. 6, p. 1687-1691, 1999.

MINELLA, E.; SORRELS, M. E. Inheritance and chromosome location of *Alp*, a gene controlling aluminium tolerance in Dayton barley. *Plant Breeding*, Bonn, v. 116, n. 5, p. 465-469. 1997.

MINELLA, E. Hibridação em cevada. In: BOREM, A. (Org.). *Hibridação artificial de plantas*. Viçosa: Editora UFV, 1999, p. 255-267.

MINELLA, E. Indicações técnicas para a produção de cevada cervejeira nas safras 2011 e 2012. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CEVADA, 28., 2011, Guarapuava. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2011. 99 p.

MINELLA, E. Barley in tropical areas: the Brazilian experience. In: ADVANCE IN BARLEY SCIENCES, 11. 2013, China. *Proceeding of 11th international barley genetics symposium*. Hangzhou: Edt. Zhejiang University Press, 2013, p. 359-366.

MINELLA, E. *Árvore do conhecimento: Cevada*. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cevada/arvore/CONT000fyt381uk02wx5ok0vcihk68tas55r.html>>. Acesso em: 10 Jan. 2014.

MIRALLES, D.J.; ARISNABARRETA, S.; ALZUETA, I. Desarrollo ontogênico y generación del rendimiento. In: MIRALLES, D.J.; BENECH-ARNOLD, R.L.; ABELEDO, G. *Cebada cervecera*. Buenos Aires: Gráfica, 2011, p.1-34.

MOHAMMADI, S. A.; PRASANNA, B. M. Analyses of genetic diversity in crop plants – Salient statistics tools and considerations. *Crop Science*, Madison, v. 43, n. 4, p. 1235-1248, 2003.

MOLINA-CANO, J. L. *La cebada. Morfología, Fisiología, Genética, Agronomía y Uso Industriales*. Madrid: J. L. Molina-Cano, 1989. 252 p.

MOLINA-CANO, J. L.; FRANCESCH, M.; PEREZ-VENDRELL, A. M.; RAMO, T.; VOLTAS, J.; BRUFAU, J. Genetic and environmental variation in malting and feed quality of barley. *Journal of Cereal Science*, Manhattan, v. 25, n. 1, p. 37-47, 1997.

MORALEJO, M.; SWANSTON, J. S.; MUÑOZ, P.; PRADA, D.; ELÍA, M.; RUSSELL, J. R.; RAMSAY, L.; CISTUÉ, L.; CODESAL, P.; CASAS, A. M.; ROMAGOSA, I.; POWELL, W.; MOLINA-CANO, J. L. Use of new EST markers to elucidate the genetic differences in grain protein content

between European and North American two-rowed malting barleys. *Theoretical and applied Genetics*, Stuttgart, v. 110, n 110, p. 116-125, 2004.

MOREIRA, J. A. N.; SANTOS, J. W. DOS; OLIVEIRA, S. R. M. *Abordagens e metodologias para avaliação de germoplasma*. Campina Grande: Embrapa-CNPA, 1994. 115 p.

MORGAN, A. G.; GILL A. A.; SMITH D. B. Some barley grain and green malt properties and their influence on malt hot-water extract. I. β -glucan, β -glucan solubilase and endo β -glucanase. *Journal of the Institute of Brewing*, London, v. 89, p. 283-291, 1983.

MUÑOZ-AMATRIAÍN, M.; CISTUÉ, L.; XIONG, Y.; BILGIC, H.; BUDDE, A. D.; SCHMITT, M. R.; SMITH, K. P.; HAYES, P. M.; MUEHLBAUER, G. J. Structural and functional characterization of a winter malting barley. *Theoretical and Applied Genetics*, Stuttgart, v. 120, n. 5, p. 971-984, 2010.

NARASIMHALU, P.; KONG, D.; CHOO, T. M.; FERGUSON, T.; THERRIEN, M. C.; HO, K. M.; MAY, K. W.; JUI, P. Effects of environment and cultivar on total mixed-linkage β -glucan content in Eastern and Western Canadian barleys (*Hordeum vulgare* L.). *Canadian Journal of Plant Science*, Ottawa, v. 75, n. 2, p. 371-376, 1995.

NEI, M. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, Chicago, v. 106, n. 949, p. 283-292, 1972.

NEVO, E. "Evolution Canyon" a potential microscale of global warming across life. *PNAS*, Washington, v. 109, n. 8, p. 2960-2965, 2012.

OGUSHI, K.; LIM, P.; BARR, A. R.; TAKAHASHI, S.; ASAKURA, T.; ITO, K. Japanese barley meets Australia: quality performance of malting barley grown in different countries. *Journal of the Institute of Brewing*, London, v. 108, n. 3, p. 303-309, 2002.

PALMER, R. G.; LIM SUNG, M.; HEDGES, B. R. Testing for linkage between the Rxp locus and nine isozyme loci in soybean. *Crop Science*, Madison, v.32, n. 3, p. 681-683, 1992.

PASSARELLA, V. S.; SAVIN, R.; ABELEDO, L. G.; SLAFER, G. A. Malting quality as affected by barley breeding (1944–1998) in Argentina. *Euphytica*, Wageningen, v. 134, n. 2, p. 161-167, 2003.

PASSARELLA, V. S.; SAVIN, R.; SLAFER, G. A. Breeding effects on sensitivity of barley grain weight and quality to events of high temperature during grain filling. *Euphytica*, Wageningen, v. 141, n. 1-2, p. 41-48, 2005.

PATERSON, A. H.; TANKSLEY, S. D.; SORRELLS, M. E. DNA markers in plant improvement. *Advances in Agronomy*, [Newark, v. 46, p. 39-90, 1991.

PAUX, E.; SOURDILLE, P.; MACKAY, I.; FEUILLET, C. Sequence-based marker development in wheat: Advances and applications to breeding. *Biotechnology Advances*, Amsterdam, v. 30, n. 5, p. 1071-1088, 2012.

PESTSOVA, E.; KORZUN, V.; GNCHAROV, N. P.; HAMMER, K.; GANAL, M. W.; RODER, M. S. Microsatellite analysis of *Aegilops tauschii* germplasm. *Theoretical Applied Genetics*, Stuttgart, v. 101, n.1-2, p. 100-106, 2000.

PETERSON, D. United State Department of Agriculture (USDA). *Cereal Crops Research Unit*, Madison, [s.n], 2001.

POEHLMAN, J. M. Adaptation and distribution. In: RASMUSSEN, D. C. *Barley*. Agronomy Monograph n. 26, Madison: American Society of Agronomy, 1985. p. 1-17.

POEHLMAN, J. M.; SLEPER, D. A. *Breeding field crops*. 4 ed. Ames: Iowa State University, 1995. 473 p.

POLLOCK, J. R. A. The analytical examination of barley and malt. In: COOK, A. H (Org). *Barley and malt: biology, biochemistry, technology*, London: Academic press Inc., 1962. 740 p.

POWELL, W.; CALIAGARI, P. D. S.; SWANSTON, J. S.; JINKS, J. L. Genetic investigations into β -glucan content in barley. *Theoretical and Applied Genetics*, Stuttgart, v. 71, n. 3, p. 461-466, 1985.

PRASAD, B; ALIMOHAMMADIAN, C. A. E.; SAHNI, A. Dinosaur coprolites and the early evolution of grasses and grazers. *Science*, Washington, v. 310, n. 5751, p. 1117-1180, 2005.

PRIOLLI, R. H. G.; MENDES-JUNIOR, C. T.; SOUSA, S. M. B.; SOUSA, N. E. A.; CONTEL, E. P. B. Diversidade genética da soja entre períodos e entre programas de melhoramento no Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 39, n.10, p. 967-975, 2004.

PSOTA, V.; HARTMANN, J.; SEJKOROVÁ, N.; LOUČKOVÁ, T.; VEJRAŽKA, K. 50 years of progress in quality of malting barley grown in the Czech Republic. *Journal of the Institute of Brewing*, London, v. 115, n. 4, p. 279-291, 2009.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. B. *Genética na agropecuária*. 5. ed. São Paulo: Editora Globo, 1989. 359 p.

RAMALHO, M. A. P. Melhoramento Genético de Plantas no Brasil: situação atual e perspectivas. Goiânia: Embrapa, 2001. 1.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. *Genética na Agropecuária*. Lavras: UFLA, 2004. p. 255-289.

RAMSAY, L.; MACAULAY, M.; IVANISSEVICH, S. D.; MACLEAN, K.; CARDLE, L.; FULLER, J.; EDWARDS, K. J.; TUVESON, S.; MORGANTE, M.; MASSARI, A.; MAESTRI, E.; MARMIROLI, N.; SJAKSTE, T.; GANAL, M.; POWELL, W.; WAUGH, R. A simple sequence repeat-based linkage map of barley. *Genetics society of America*, Bethesda, v. 156, n. 4, p. 1997-2005, 2000.

RAO, C. R. *Advanced statistical methods in biometric research*. New York: John Wiley, 1952. 390 p.

RESENDE, M. D. V. de; DUARTE, J. B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Brasília, v. 37, n. 3, p. 182-194. 2007.

ROHLF, J. F. NTSYS pc: *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*. Versão 2.0. New York: Applied Biostatistics Inc, 1998. 31 p.

ROSTOKS, N.; MUDIE, S.; CARDLE, L.; RUSSELL, J.; RAMSAY, L.; BOOTH, A.; SVENSSON, J. T.; WANAMAKER, S. I.; WALIA, H.; RODRIGUEZ, E. M.; HEDLEY, P. E.; LIU, H.; MORRIS, J.; CLOSE, T. J.; MARSHALL, D. F.; WAUGH, R. Genome wide SNP discovery and linkage analysis in barley based on genes responsive to abiotic stress. *Molecular Genetics and Genomics*, Gothenburg, v. 274, n. 5, p. 515-527, 2005.

SAS (SAS Institute, 2004 - versão 9,1). Disponível em: <http://support.sas.com/documentation/onlinedoc/91pdf/index.html>. Acesso em: 30 Nov. 2013.

SAEIDI, H.; RAHIMINEJAD, M. R.; VALLIAN, S.; HESLOP-HARISON, J.S. Biodiversity of diploid D-genome *Aegilops tauschii* Coss. In: Iran measured using microsatellites. *Genetic Resources and Crop Evolution*, Copenhagen, v. 53, n. 7, p. 1477-1484, 2006.

SARKAR, B.; VERMA, R. P. S.; MISHRA, B. Genetic diversity for malting quality in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Indian Journal of Agricultural Sciences*, New Delhi, v. 68, n. 2, p. 163-170, 2008.

SAVIN, R.; AGUINAGA, A. Los requerimientos de la industria: calidad comercial e industrial y sus determinantes. In: MIRALLES, D. J.; BENECH-ARNOLD, R. L.; ABELEDO, G. *Cebada cervecera*. Buenos Aires: Editorial Facultad de Agronomía, 2011. p. 205-240.

SAVIO, H. N.; AGUINAGA, A. Mejoramiento genético de cebada cervecera. In: MIRALLES, D. J.; BENECH-ARNOLD, R. L.; ABELEDO, G. *Cebada cervecera*. Buenos Aires: Editorial Facultad de Agronomía, 2011. 244-272 p.

SCHUSTER, I.; ABDELNOOR, R. V.; MARIN, S. R. R.; CARVALHO, V. P.; KIIHL, R. A. S.; SILVA, J. F. V.; SEDIYAMA, C. S.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Identification of a new major QTL associated with resistance to soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*). *Theoretical and Applied Genetics*, Stuttgart, v. 102, n. 1, p. 91-96, 2001.

SEMAGN, K. Genetic relationships among ten endod types as revealed by a combination of morphological, RAPD and AFLP markers. *Hereditas*, Lund, v. 137, n. 2, p. 149-156, 2002.

SILVA, D. B. da; GUERRA, A. F.; MINELLA, E.; ARIAS, G. BRS 180: cevada cervejeira para cultivo irrigado no Cerrado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 35, n. 8, p. 1689-1694, 2000.

SOKAL, R. R.; MICHENER, C. D. *A statistical method for evaluating systematic relationships*. Kansas: The University of Kansas Scientific Bulletin, 1958. 30 p.

STAUB, J. E.; SERQUEN, F. C.; GUPTA, M. Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *HortScience*, Madison, v. 31, n. 5, p. 729-741, 1996.

STUART, I. M.; LOI, L.; FINCHER, G. B. Varietal and environmental variations in (1-3, 1-4)- β -glucan levels and (1-3, 1-4)- β -glucanase potential in barley: Relationships to malting quality. *Journal of Cereal Science*, Manhattan, v. 7, n. 1, p. 61-71, 1988.

SUDRÉ, C. P.; RODRIGUES, R.; RIVA, E. M.; KARASAWA, M.; AMARAL JUNIOR, A. T. Divergência genética entre acesso de pimenta e pimentão utilizando técnicas multivariadas. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 23, n. 1, p. 22-27, 2005. pSWANSTON, J.; ELLIS, R. P. Genetics and breeding of malt quality attributes. In: SLAFER, G. A.; MOLINA-CANO, J. L.; SAVIN, R.; ARAUS, J. L. ROMAGOSA, I (Eds.). *Barley Science, Recent Advances from Molecular Biology to Agronomy of Yield*. Madison: Food Products Press, 2002. p. 85-114.

TAHERNEZHAD, Z.; ZAMANI, M. J.; SOLOUKI, M.; ZAHRAVI, M.; IMAMJOMEH, A. A.; JAFARAGHAEL, M.; MOHAMMAD REZA BIHAMTA, M. R. Genetic diversity of

Iranian *Aegilops tauschii* Coss. using microsatellite molecular markers and morphological traits. *Molecular Biology Reports*, Connecticut, v. 37, n. 7, p. 3413–3420, 2010.

THE BREWER INTERNATIONAL. *Malt specifications & brewing performance*. United Kingdom: The Institute & Guild of Brewing, 2002. (Technical Summary, 2).

THE INTERNATIONAL BARLEY GENOME SEQUENCING CONSORTIUM. A physical, genetic and functional sequence assembly of the barley genome. *Nature*, London, v. 491, n. 11543, p. 711-716, 2012.

TSCHOPE, E. C.; NOHEL, F. *A malteação da cevada*. Vassouras: Senai, 1999. 272 p.

THOMAS, W. T. B. Molecular marker-assisted versus conventional selection in barley breeding. In: SLAFER, G. A.; MOLINA-CANO, J. L.; SAVIN, R.; ARAUS, J. L. ROMAGOSA, I (Eds.). *Barley Science, Recent Advances from Molecular Biology to Agronomy of Yield*. Madison: Food Products Press, 2002. p. 177-204.

ULLRICH S. E.; HAN, F.; JONES, B. L. Genetic complexity of the malt extract trait in barley suggested by QTL analysis. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, St. Paul, v. 55, n. 1, p. 1-4, 1997.

VALOIS, A. C. C. *Genética aplicada a recursos filogenéticos*. Brasília: UNEB, 1998. 318 p.

VERMA, R. P. S.; SARKAR, B. Diversity for malting quality in barley (*Hordeum vulgare*) varieties released in India. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, New Delhi, v. 80, n. 6, p. 493-500, 2010.

WAUGH R, MARSHALL D, THOMAS B, COMADRAN J, RUSSELL J, CLOSE T.; NILS STEIN, N.; HAYES, P.; MUEHLBAUER, G.; JAMES COCKRAM, J.; O’SULLIVAN, D.; MACKAY, I.; FLAVELL, A.; AGOUEB.; BARLEYCAP.; RAMSAY, L. Whole-genome association mapping in elite inbred crop varieties. *Genome*, Ottawa , v. 53, n. 11, p. 967-72, 2010.

WENZL, P.; CARLING, J.; KUDRNA, D.; JACCOUD, D.; HUTTNER, E.; KLEINJOFS, A.; KILLIAN, A. Diversity arrays technology (DArT) for whole-genome prolling of barley. *PNAS*, Washington, v. 101, n. 26, p. 9915-9920, 2004.

WOODWARD, J. R.; FINCHER, G. B. Purification and chemical properties of two 1,3-1,4- β -glucan endohydrolases from germinating barley. *European Journal of Biochemistry*, Dublin, v. 121, n. 3, p. 663-669, 1982.

WYCH, R. D.; RASMUSSEN, D. C. Genetic improvement in malting barley cultivars since 1920. *Crop Science*, Madison v. 23, n. 6, p. 1037-1040, 1983.

YALÇIN, E.; ÇELİK, S.; AKAR, T.; SAYIM, I.; KÖKSEL, H. Effects of genotype and environment on β -glucan and dietary fiber contents of hull-less barley grown in Turkey. *Food Chemistry*, Barking, v. 101, n. 1, p. 171-176, 2007.

YAN, X.; ZHU, J.; XU, S.; XU, Y. Genetic effects of embryo and endosperm for four malting quality traits of barley. *Euphytica*, Wageningen, v. 106, n. 1, 27-34, 1999.

YU, J.; PRESSOIR, G.; BRIGGS, W. H.; VROH, BI I.; YAMASAKI, M.; DOEBLEY, J. F. MCMULLEN, D. M.; GAUT, S. B.; NIELSEN, M. D.; HOLLAND, B. J.; KRESOVICH, S.; BUCKLER, S. E. A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. *Nature Genetics*, New York, v. 38, n. 2, p. 203-208, 2006.

ZHANG, G.; CHEN, J.; WANG, J.; DING, S. Cultivar and environmental effects on (1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 4)- β -D-glucan and protein content in malting barley. *Journal of Cereal Science*, Manhattan, v. 34, n. 3, p. 295-301, 2001.

ZHANG, G.; LI, C. *Genetics and Improvement of Barley Malt Quality*. Hangzhou and Heidelberg: Zhejiang University Press and Springer, 2010. 296 p.

ZOHARY, D.; HOPF, M.; WEISS, E. *Domestication of plants in the Old World: The origin and spread of domesticated plants*

in Southwest Asia, Europe, and the Mediterranean Basin. 4 ed. Clarendon: Oxford University Press, 2012. 316 p.

ZOHARY, M.; FISCHER, G. *Geobotanical foundations of the Middle East*. Stuttgart: G. Fischer, 1973. 738 p.

ZSCHOERPER, O. P. *Apostila curso cervejeiro e malteador – AMBEV*. Porto Alegre: Ambev, 2009. 71 p.

Apêndice 1 - Marcador molecular, respectivas sequências genéticas e referências bibliográficas. Embrapa, Passo Fundo – RS, 2014

Primer	Sequência F (5' 3')	Sequência R (5' 3')	Referência
Bmac0032*	CCATCAAAAGTCCGGCTAG	GTGGGCCTCATACTGAC	Liu et al. (1996); Ramsay et al. (2000)
EBmac0684	TTCCGTTGAGCTTTCATACAC	ATTGAATCCCAACAGACACAA	Liu et al. (1996); Ramsay et al. (2000)
EBmag0794	CAGTCATAAACCTGATGAACAA	TCACACTTATCTTGCTGCTAA	Liu et al. (1996); Ramsay et al. (2000)
HVM6	CATGAATGAATGATTGGTTTIG	CGCATCCGTATGTATGAGTAA	Liu et al. (1996); Ramsay et al. (2000)
HVM40*	CGATTTCCCTTTTCCCAC	ATTCTCCGCCGTCCACTC	Liu et al. (1996); Ramsay et al. (2000)
HVM62	TCGGACCAGACGAGAAG	AGCTAGCCGACGACGCAC	Liu et al. (1996); Ramsay et al. (2000)
HVM65	AGACATCCAAAAATGAACCA	TGGTAACTTGTCCCCCAAAG	Liu et al. (1996); Ramsay et al. (2000)
HVM68	AGGAACCGGATGTTCAATAACG	CAAACTTCCAGCGAGGCT	Liu et al. (1996); Ramsay et al. (2000)
HVM54	AACCCAGTAACACCGTCCIG	AGTTCCCTGACCCCGATGTC	Liu et al. (1996); Ramsay et al. (2000)
HVM36	TCCAGCCGAAACAATTTCTTIG	AGTACTCCGACACACCACGTCC	Liu et al. (1996); Ramsay et al. (2000)
HVM43	GGATTTTCTCAAGAACAACCTT	CGCTGAGTGCATAACATT	Liu et al. (1996); Ramsay et al. (2000)
HVM77	GAAATTGGTGTATGATGTT	CAAATCTTAAATCTCTGTGTT	Liu et al. (1996); Ramsay et al. (2000)
HVM4*	AGAGCAACTACCAGTCCAATGGCA	GTCGAAGGAGAAAGCGCCCTGGTA	Liu et al. (1996); Ramsay et al. (2000)
HVM5	AACGACGTCGCCACACAC	AGGAACGAAAGGAGTATTAAGCAG	Liu et al. (1996); Ramsay et al. (2000)
HVCMA*	GCCTCGGTTTGGACATATAAAG	GTAAAGCAAAATGTTGAGCAACG	Liu et al. (1996); Ramsay et al. (2000)
HVCSG	CAC TTGCCTACCTCGATATAGTTTGC	GTGGATTCCATGCATGCAATAATGTGG	Liu et al. (1996); Ramsay et al. (2000)
HVDHN7*	TTAGGGCTACGGTTCAGATGTT	ACGTTGTTCTTCGCTGCTG	Liu et al. (1996); Ramsay et al. (2000)
Bamy	GATGGTCGTTCCCATGCATC	AGGGAACCCGACGTTGGGGTCAAATGA	Liu et al. (1996); Ramsay et al. (2000)
scsrf07759*	GCAACTCCTCATCATCTCAGG	CAACAGCCAGAAAGGTCTACG	Liu et al. (1996); Ramsay et al. (2000)
scsrf00334	CAAAACAGCCACTGTCCTAGC	AGGGCGAGGTAGATGACG	Liu et al. (1996)
scsrf12203	AAGCCATGATCGGACTAGG	TACACGTAAGGGAAGAAGG	Liu et al. (1996)
scsrf02236	TTCTTGCTAGTTTGCTAATCG	TGGCGAGGAAAGTAGAAGAGG	Liu et al. (1996)

Primer	Sequência F (5' 3')	Sequência R (5' 3')	Referência
scsr07402	AGTTCCTGCCCTAGAAAATGG	TCTTCCCAATGTCAATTACC	Liu et al. (1996)
scsr08623*	AACATTTACACCAATCTAATTCC	ACAGTAGAAGCTAGCCTTGG	Liu et al. (1996)
scsr10559	CATTTCCCTCCCTTGC	CTCACCTCCTGCCGATCC	Liu et al. (1996)
scsr01846*	GGCTCGGTAAAATGAAGTAGC	AGCCGAGCATGTAATCACC	Liu et al. (1996)
scsr10477	AGAGCAATGAGCTCCTACCC	GCTTACTCGCTCGTTAGTCC	Liu et al. (1996)
scsr08238*	CAGCAGCAGATCAAATCAGG	TACTCTTCTTTGGCCTTGG	Liu et al. (1996)
scsr04163a*	GAAGAAACAACCCAACTTCC	AGGATCGTACGAAGAACAGC	Liu et al. (1996)
scsr04163b	CAGAGCCAGTAGCAGTAGAGC	GGATCATCCGACTCACTCC	Liu et al. (1996)
scsr18076	CAGCTAGTCGGCATTG	GAGTCCACTGTGCCTTG	Liu et al. (1996)
scsr15334*	GGGAGCCGTAAGTAAGAACC	CGACCTCTGAATCTCAAATCC	Liu et al. (1996)
scsr09041*	CATGTCAGTGGGGTTCTAGC	TCTACTTGGACCTGCTGACC	Liu et al. (1996)
scsr03906*	ACCATGTCTTCCCCAAGC	GGAAAGTGGACGAAGA ACTCC	Moralejo et al. (2004)
scsr03686	CCCACACCCACTACACTAGG	GTCACGTACGGTGTGCGATG	Moralejo et al. (2004)
scsr03907*	CTCCCATCACACCATCTGTC	GACATGGTTCCCTTCTTCTTC	Moralejo et al. (2004)
HvSMEh31	GCCTTAAACCCCAACCCCTA	CTTCAGGAGAAAACCTTGATG	Moralejo et al. (2004)
HvSMEh221	GTC TTCGTACTCGCCTCTC	CTCAGGGTGTAAAGAGCTGTC	Moralejo et al. (2004)
HvSMEh229	CTCGAACACATCGCCATC	TAGAGGCTGTAGAGGCAGAG	Moralejo et al. (2004)
HvSMEh288	GAGGAGAGAGAGAGAGAGGG	TTCACGTTCTATACTTCCC	Moralejo et al. (2004)
HvSMEh297	CAAACGGAACTCCTCCTC	AGATAGGGCTTCTTCTTGCT	Moralejo et al. (2004)
HvSMEh299	AGAGCAACAGCGACATCTT	ATCCTTCTCCTCCTCCTTC	Moralejo et al. (2004)
HvSMEh310	ATCCAGTTTCAGCCACCA	CGGTAGTAGTGTACGTCG	Moralejo et al. (2004)
HvSMEh347	GCCTTAAACCCCAACCCCTA	CTTCAGGAGAAAACCTTGATG	Moralejo et al. (2004)

Continuação...			
Primer	Sequência R (5' 3')	Referência	
HvSMEh743	GTC TTCGTACTCGCCTCTC	CTGAAGAAGGTGTTGAAAAGC	Moralejo et al. (2004)
HvSMEh751	CTCGAACACATCGCCATC	TAGAGGCTGTAGAGGCAGAG	Moralejo et al. (2004)
HvSMEh820	GAGGAGAGAGAGAGAGGG	TTCACGTTCTATACTTCCCG	Moralejo et al. (2004)
HvSMEi843	TCAGGAAA GAAGGAAAGTGA	TGACAGTTCAGACGAACTCA	Moralejo et al. (2004)
HvSMEi845	CTGCTTAAGATTTCGCTGAT	AACAGTGCACATGGTACAAA	Moralejo et al. (2004)
HvSMEi846	ACGGACAAAAGATTTCCGGT	CTCCATCTTGACGCTCAC	Moralejo et al. (2004)
HvSMEi868*	CTGCAAGAAGCCAAGAATAC	ATTGGGAGTGCTAGGAGACT	Moralejo et al. (2004)
HvSMEi872	ACCTTCCAGGAGCAAGAG	CTTGAACATGAAAGATGTCCG	Moralejo et al. (2004)
HvSMEi1255	GTC TTCGTACTCGCCTCTC	CTGAAGAAGGTGTTGAAAAGC	Ramsay et al. (2000)
HvSMEi1326*	CCTCTACTCCAACTCCACTG	CCATCTGTCAATCTCAACCT	Ramsay et al. (2000)
HvSMEi1335	GAAAGGAGGCATCCATCG	AATTAGAAAGCATGTCTCGG	Ramsay et al. (2000)

*Marcador molecular que apresentou polimorfismo nos genótipos testados neste trabalho.

Apêndice 2 - Marcadores microsatélites associados à qualidade de malte, respectivas funções e referências bibliográficas Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2014

Marcador molecular	Associação	Cromossomo	Autor
HVM4	Síntese de amido	1	Liu et. Al. (1996)
HvSMEi1326	Conteúdo de β -glucanos e atividade da enzima β -glucanase	2	Ramsay (2000); Liu (1996)
HvSMEi868	Excesso de β -glucanos	7	Ramsay (2000); Liu (1996)
scsr01846	Catalase 1 pirT06478 catalase (EC 1.11.1.6)	4	Moralejo et. al. (2004)
scsr03907	Conjugação da enzima ubiquitina E2-23 kDa	7	Moralejo et. al. (2004)
scsr04163a	UDP-glucose 4-epimerase	5	Moralejo et. al. (2004)
scsr07759	Proteína hipotética associada à qualidade	2	Moralejo et. al. (2004)
scsr09041	Fator sigma SIG6	7	Moralejo et. al. (2004)
scsr15334	Proteína putativa bZIP associada ao amadurecimento	7	Moralejo et. al. (2004)