

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

**SELEÇÃO RECORRENTE FENOTÍPICA NO  
MELHORAMENTO GENÉTICO DE ALCACHOFRA  
E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E QUÍMICA  
DOS DISTINTOS CICLOS**

**ANGÉLICA REOLON DA COSTA**

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

Passo Fundo, março de 2014.

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

**SELEÇÃO RECORRENTE FENOTÍPICA NO  
MELHORAMENTO GENÉTICO DE ALCACHOFRA  
E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E QUÍMICA  
DOS DISTINTOS CICLOS**

**ANGÉLICA REOLON DA COSTA**

**Orientador: Profa. Magali Ferrari Grando, Ph.D  
Coorientador: Profa. Dra. Vanina Cravero**

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

Passo Fundo, março de 2014.



UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL



A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a tese

"Seleção Recorrente Fenotípica no Melhoramento Genético de Alcachofra e  
Caracterização Molecular e Química dos Distintos Ciclos"

Elaborada por

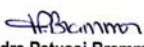
Angélica Reolon da Costa

Como requisito parcial para a obtenção do grau de  
"Doutora em Agronomia – Área de Produção Vegetal"

Aprovada em: 28/03/2014  
Pela Comissão Examinadora

  
Dra. Magali Ferrari Grando  
Presidente da Comissão Examinadora  
Orientadora

  
Dra. Vanina Pamela Cravero  
Coorientadora  
Universidade Nacional de Rosário

  
Dra. Sandra Patussi Brammer  
Embrapa Trigo

  
Dra. Lizete Augustin  
FAMV/UPF

  
Dra. Simone Meredith Scheffer Basso  
Coordenadora PPGAgro

  
Dr. Hélio Carlos Rocha  
Diretor FAMV

  
Dra. Beatriz Teresinha Donida  
Cotrel

## CIP – Catalogação na Publicação

- 
- C837s Costa, Angélica Reolon da  
Seleção recorrente fenotípica no melhoramento genético de alcachofra e caracterização molecular e química nos distintos ciclos / Angélica Reolon da Costa. – 2014.  
176 f. : il., color. ; 25 cm.
- Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de Passo Fundo, 2014.  
Orientador: Profa. Magali Ferrari Grando, PhD.  
Coorientador: Profa. Dra. Vanina Cravero.
1. Alcachofra - Melhoramento genético. 2. Alcachofra - Cultivo. 3. Agronomia. 4. Plantas – Melhoramento genético. 5. Alimentos - Consumo. I. Grando, Magali Ferrari, orientador. II. Cravero, Vanina, coorientador. III. Título.

CDU: 635.32

## **BIOGRAFIA DO AUTOR**

**ANGÉLICA REOLON DA COSTA** nasceu em 11 de junho de 1983, natural do município de Espumoso - RS. Em 2005 concluiu o curso de Ciências Biológicas pela Universidade do Cruz Alta – UNICRUZ, Campus de Cruz Alta. Em 2010 obteve o título de mestre em Agronomia pelo Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade de Passo Fundo - UPF, realizando estudos de caracterização morfológica em cultivo *in vitro* de alcachofra. Em março do referido ano ingressou no doutorado pelo mesmo Programa de Pós-Graduação.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço minha mãe, Clarisse Maria Reolon, e minha irmã, Ângela Reolon da Costa, por todo o carinho, a paciência, a compreensão, o amor e o apoio nos momentos difíceis. Obrigado pela confiança na minha capacidade e por abraçarem comigo este sonho.

A meu pai, José Jozias Rodrigues da Costa (*in memoriam*) que mesmo distante ilumina meu caminho e minhas tias Leandres Bernardete Musa Daoud e Olmerinda Salette Benedetti, pelas orações, pela torcida e as energias positivas. Ter essas pessoas na minha vida me deu forças para trilhar esse caminho.

Agradeço à Universidade de Passo Fundo, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, pela oportunidade e apoio durante o período de realização do trabalho. A CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Com carinho agradeço à Profa. Magali Ferrari Grando, Ph.D pela amizade, confiança e compreensão. À Profa. Dra Vanina Pamela Cravero pelo apoio, as conversas e todo o conhecimento transmitido. Às Profs. Dra. Eunice Oliveira Calvete e Dra. Simone Meredith Sheffer Basso, pela força e incentivo nos momentos de dificuldade.

Agradeço às pesquisadoras da Universidade Nacional de Rosário, Dra. Stella Maris Garcia, Rosana Rotondo e Dra. Eugenia Martim pela consultoria científica durante o desenvolvimento do trabalho, bem como pela atenção a mim dedicada no período em que estive na Argentina.

Aos meus amigos e colegas de Laboratório de Biotecnologia Vegetal, pela amizade, os cafés, as mesas redondas e momentos de diversão. Agradeço às amigas Rosiani Castoldi da Costa e Ana Claudia Pedersen por toda a força, a ajuda, as conversas e os desabafos.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	x
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	xii
<b>RESUMO.....</b>	17
<b>ABSTRACT.....</b>	20
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	22
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	29
2. 1 Caracterização da cultura.....	29
2. 2 Importância da cultura.....	33
2. 3 Melhoramento genético de alcachofra.....	37
2. 4 Marcadores moleculares em alcachofra.....	44
<b>CAPÍTULO I - SELEÇÃO DE PLANTAS DE ALCACHOFRA E ANÁLISES DE CORRELAÇÃO ENTRE CARACTERES QUANTITATIVOS.....</b>	48
<b>RESUMO.....</b>	48
<b>ABSTRACT.....</b>	50
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	51
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	53
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	55
<b>4 CONCLUSÕES.....</b>	81
<b>CAPÍTULO II - SELEÇÃO RECORRENTE FENOTÍPICA NO MELHORAMENTO GENÉTICO DE ALCACHOFRA.....</b>	82
<b>RESUMO.....</b>	82
<b>ABSTRACT.....</b>	83
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	85
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	87
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	93
<b>4 CONCLUSÕES.....</b>	111
<b>CAPÍTULO III - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE TRÊS CICLOS DE SELEÇÃO RECORRENTE FENOTÍPICA COM BASE EM MARCADORES MICROSSATÉLITES E SRAPs.....</b>	112
<b>RESUMO.....</b>	112
<b>ABSTRACT.....</b>	113
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	115
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	117



<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>120</b>
<b>4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>131</b>
<b>CAPÍTULO IV - CONTEÚDO DE FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM UMA POPULAÇÃO DE ALCACHOFRA SUBMETIDA A TRÊS CICLOS DE SELEÇÃO RECORRENTE FENOTÍPICA.....</b>	<b>132</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>132</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>133</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>135</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>136</b>
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>138</b>
<b>4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>145</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>146</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>147</b>

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I: Seleção de plantas de alcachofra e análises de correlação entre caracteres quantitativos

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
1	Análise de variância de 17 características quantitativas avaliadas em 39 plantas de alcachofra, Passo Fundo- 2014.....	56
2	Valores significativos de correlação de Pearson entre os caracteres avaliados entre plantas de alcachofra pertencentes a diferentes cultivares, Passo Fundo - 2014.....	72
3	Descrição das 39 plantas avaliadas quando aos três principais caracteres de qualidade de capítulo para consumo <i>in natura</i> , Passo Fundo - 2014.....	76

### CAPÍTULO II: Seleção recorrente fenotípica no melhoramento genético de alcachofra

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
1	Análise de variância os ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica, Passo Fundo - 2014.....	101
2	Ganhos estimados entre o ciclo C0-ciclo C1, ciclo C1-C2 e ciclo C0-ciclo C2 (ganho final), Passo Fundo - 2014.....	104

**CAPÍTULO III:** Caracterização molecular de três ciclos de seleção recorrente fenotípica com base em marcadores moleculares microssatélites e SRAPs

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
1	Relação das sequências de primers microssatélites (SSR) utilizados, Passo Fundo - 2014.....	119
2	Relação das sequências de primers SRAPs utilizados, Passo Fundo - 2014.....	120
3	Número de alelos (No), Número efetivo de alelos (Ae), Índice de identidade genética (I), Heterozigosidade observada (Ho), Heterozigosidade esperada (He) e Frequência de bandas (Fb), Passo Fundo - 2014.....	123
4	Coefficiente de endogamia (f) nos quatro locos de microssatélites analisados em três gerações de seleção recorrente fenotípica de alcachofra, Passo Fundo - 2014.....	128
5	Distância genética de Nei (1973) entre os três ciclos de seleção recorrente fenotípica em alcachofra, Passo Fundo - 2014.....	129
6	Análise da variância molecular (AMOVA) para marcadores SSRs e SRAPs em alcachofra, Passo Fundo, 2014.....	130

**CAPÍTULO IV:** Conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante em uma população de alcachofra submetida a três ciclos de seleção recorrente fenotípica

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
1	Análise de variância entre os três ciclos avaliados para fenólicos totais e poder redutor (capacidade antioxidante) Passo Fundo - 2014.....	139

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I: Seleção de plantas de alcachofra e análises de correlação entre caracteres quantitativos

<b>Figura</b>	<b>Página</b>	
1	Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro para o caráter comprimento da base das brácteas, entre 39 plantas de alcachofra. Letras comparam as médias entre tratamentos, Passo Fundo - 2014.....	58
2	Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro para o caráter largura da base das brácteas entre 39 plantas de alcachofra. Letras comparam as médias entre tratamentos, Passo Fundo - 2014.....	60
3	Representação esquemática das partes comestíveis da alcachofra, brácteas e fundo (receptáculo floral), Passo Fundo - 2014.....	61
4	Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro para o caráter duração da colheita, entre 39 plantas de alcachofra. Letras comparam as médias entre tratamentos, Passo Fundo - 2014.....	62
5	Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro para ao caráter altura dos capítulos secundários, entre 39 plantas de alcachofra. Letras comparam as médias entre tratamentos, Passo Fundo - 2014.....	64
6	Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro para o caráter diâmetro dos capítulos secundários, entre 39 plantas de alcachofra. Letras comparam as médias entre tratamentos, Passo Fundo - 2014.....	65

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
7	Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro para o caráter massa fresca dos capítulos secundários, entre 39 plantas de alcachofra. Letras comparam as médias entre tratamentos, Passo Fundo - 2014.....	66
8	Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro para o caráter número de capítulos secundários entre 39 plantas de alcachofra. Letras comparam as médias entre tratamentos. Passo Fundo -2014.....	67
9	Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro para o caráter total de capítulos por planta, entre 39 plantas de alcachofra. Letras comparam as médias entre tratamentos, Passo Fundo - 2014.....	68
10	Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro para o caráter rendimento, entre 39 plantas de alcachofra. Letras comparam as médias entre tratamentos, Passo Fundo – 2014.....	70
11	Frequências relativas para cada classe dos caracteres: formato (a) e coloração do capítulo primário (b) e presença/ausência de espinhos (c) nas 39 plantas avaliadas, Passo Fundo - 2014.....	77-78

## **CAPÍTULO II:** Seleção recorrente fenotípica no melhoramento genético de alcachofra

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Temperatura máxima e mínima média mensais durante os três anos de cultivo, Passo Fundo - 2014..	89
2	Radiação PAR mensal nos três anos de cultivo, Passo Fundo - 2014.....	90

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
3	Representação das classes de (a) formato do capítulo primário: circular (1), elíptico (2), oval (3), triangular (4) e elíptico largo transversal (5); (b) coloração externa das brácteas: verde (1), verde rajado de violeta (2), violeta rajado de verde (3), principalmente violeta (4) e completamente violeta (5) e (c) Presença (1) ou ausência (2) de espinhos nas brácteas externas, Passo Fundo - 2014.....	92
4	Frequência relativa as classes as classes de coloração de brácteas externas, encontrados nos ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica, Passo Fundo – 2014.....	95
5	Frequência relativa as classes de formato de capítulo primário, encontrados nos ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica, Passo Fundo - 2014.....	97
6	Frequência relativa a presença ou ausência de espinhos na ponta das brácteas externas, encontrados nos ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica, Passo Fundo – 2014.....	98
7	Frequência relativa e aumento das mesmas ao longo do processo de seleção recorrente fenotípica para as características coloração roxa, formato circular e ausência de espinhos na ponta das brácteas, Passo Fundo - 2014.....	99
8	Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro entre os ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica para a variável período de implantação á colheita. Letras comparam as médias entre tratamentos, Passo Fundo - 2014.....	102
9	Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro entre os ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica para a variável duração do período de colheita. Letras comparam as médias entre tratamentos, Passo Fundo - 2014.....	103

<b>Figuras</b>	<b>Página</b>
10	103
11	105
12	106
13	107
14	108
15	109
16	110

**CAPÍTULO III:** Caracterização molecular de três ciclos de seleção recorrente fenotípica com base em marcadores moleculares microsatélites e SRAPs

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Gel poliacrilamida, mostrando o produto da amplificação com do microsatélite (Celms 39) demonstrando os dois alelos encontrados, Passo Fundo - 2014.....	121
2	Gel poliacrilamida, mostrando o produto da amplificação com do SRAPs Me1/Em5 demonstrando os alguns dos lócus encontrados, Passo Fundo - 2014.....	122
3	Frequência dos alelos 1 e 2 nos quatro lócus microsatélites avaliados nos três ciclos de seleção recorrente fenotípica, Passo Fundo - 2014.....	124
4	Frequência dos alelos p+q observados com marcadores SRAPs nos três ciclos de seleção recorrente fenotípica, Passo Fundo - 2014.....	125

**CAPÍTULO IV:** Conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante em uma população de alcachofra submetida a três ciclos de seleção recorrente fenotípica

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Concentração de fenólicos totais em folhas de alcachofra obtidas de plantas em diferentes ciclos de seleção recorrente fenotípica, Passo Fundo - 2014.....	141
2	Poder de redução em folhas de alcachofra obtidas de plantas em diferentes ciclos de seleção recorrente fenotípica, Passo Fundo - 2014.....	142



**SELEÇÃO RECORRENTE FENOTÍPICA NO  
MELHORAMENTO GENÉTICO DE ALCACHOFRA E  
CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E QUÍMICA DOS  
DISTINTOS CICLOS**

**ANGÉLICA REOLON DA COSTA<sup>1</sup>**

**RESUMO** - A alcachofra representa uma nova alternativa de cultivo rentável para pequenas propriedades do Rio Grande do Sul e se destaca por ser uma cultura de múltiplos usos, que pode ser explorada como alimento, como medicinal, como ornamental e como fonte de energia. Portanto, os objetivos deste trabalho foram: (1) avaliar e selecionar plantas de alcachofra com aptidão ao consumo *in natura* e estabelecer correlações entre os principais caracteres quantitativos de interesse seletivo; (2) obter uma população de alcachofra melhorada para caracteres de qualidade de capítulo, pelo método de seleção recorrente fenotípica, bem como estimar os ganhos obtidos para caracteres quantitativos; (3) avaliar o impacto da seleção nas frequências alélicas nas três gerações de seleção recorrente e estimar a variabilidade genética dessas, pela utilização de marcadores microsatélites (SSRs) e sequências relativas a polimorfismo amplificado (SRAPs) (4) determinar a concentração de fenólicos totais e capacidade antioxidante em uma população submetida a distintos ciclos de seleção recorrente fenotípica e verificar alterações nessas concentrações ao longo do processo seletivo. Para cumprir a esses objetivos primeiramente foram avaliadas, quanto a 17 caracteres

---

<sup>1</sup>Bióloga, Mestre em Agronomia, Doutoranda em Agronomia, Programa de Pós - Graduação em Agronomia – Universidade de Passo Fundo

quantitativos e três qualitativos, 39 plantas pré-selecionadas da coleção de germoplasma de alcachofra da Universidade de Passo Fundo por apresentarem características de qualidade desejáveis ao consumo *in natura* (coloração violeta, formato circular e sem espinhos nas brácteas). Para a obtenção de uma população melhorada de alcachofra, utilizou-se a seleção recorrente fenotípica, onde, a partir de uma população base de 147 plantas foram conduzidos três ciclos de seleção recorrente (C0, C1 e C2). Em cada ciclo realizou-se os mesmos procedimentos: avaliação, seleção e recombinação das plantas selecionadas para gerar a próxima geração de seleção recorrente. A avaliação das plantas em cada ciclo foi feita com base em doze caracteres quantitativos e três qualitativos e a seleção realizada visualmente com base em caracteres fenotípicos do capítulo: cor, formato e espinhosidade das brácteas. O estudo do comportamento das frequências gênicas e da variabilidade genética dentro de cada ciclo foi realizado com marcadores moleculares SSRs e SRAPs. Para tal foi extraído DNA genômico de folhas jovens de 30 plantas distintas em cada ciclo de seleção recorrente fenotípica (C0, C1 e C2). Nas avaliações utilizou-se 15 microssatélites e sete combinações SRAPs, os produtos de amplificação foram observados em gel poliacrilamida. O último estudo constituiu-se da avaliação do teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante em folhas de alcachofra, coletadas de diferentes plantas em cada ciclo de seleção (C0, C1 e C2). A preparação dos extratos foi realizada, por infusão e a avaliação de fenólicos totais e poder redutor foram feitas imediatamente após a preparação dos extratos. Quanto aos resultados obtidos no primeiro estudo, houve diferenças significativas para nove

das 17 características quantitativas e dez das 39 plantas avaliadas foram superiores quanto aos caracteres quantitativos de interesse ao consumo *in natura*. Os valores de correlação obtidos podem ser utilizados como ferramentas de seleção indireta. As características qualitativas também variaram entre plantas, sendo possível selecionar nove plantas com caracteres qualitativos desejáveis ao consumo *in natura*. Já no segundo estudo, o esquema de seleção recorrente resultou em aumento da frequência de plantas com formato circular, coloração violeta e sem espinhos, na população. Com relação aos caracteres quantitativos, houve variação significativa entre ciclos para a maioria desses, sendo observado ganho genético positivo para as características: comprimento e diâmetro do capítulo primário, número e diâmetro dos capítulos secundários e espessura de fundo. As análises com marcadores microssatélites demonstraram que há alterações nas frequências alélicas e que não ocorreu redução da variabilidade genética ao longo de três ciclos de seleção recorrente fenotípica. Quanto às análises químicas, o conteúdo de fenólicos totais e capacidade antioxidante da alcachofra apresentam a tendência de reduzir ao longo dos três ciclos. Esses resultados demonstram a influência do esquema de melhoramento utilizado nas propriedades químicas da parte vegetativa de plantas pertencentes a três ciclos de seleção recorrente fenotípica.

**Palavras chaves:** *Cynara cardunculus* [var. *scolymus* (L.) Fiori], consumo *in natura*, seleção de plantas, população melhorada.

**RECURRENT SELECTION THE ARTICHOKE BREEDING  
AND MOLECULAR AND CHEMICAL CHARACTERIZATION  
THE DIFERENT CYCLES**

**ABSTRAC** - The artichoke represents a new alternative of profitable crop form small rural property of Rio Grande do Sul, it is a culture of multiple uses, that can be exploited as food, as medicinal, as ornamental and energy source. The objectives these work was: (1) evaluate and select artichoke plants for *in natura* consumption and establish correlation between main quantitative traits of selective interest; (2) obtain an improved artichoke population for traits of head quality as well as estimate the gains for quantitative traits; (3) evaluate the impact of selection in alleles frequencies of three generation of recurrent selection and estimated the genetic variability by using molecular markers microsatellites (SSRs) and sequence related amplified polymorphism (SRAPs) (4) determine total phenol and antioxidant activity in a population submitted to distinct cycles of phenotypic recurrent selection and verifies modification in these concentrations during the selection processes. To meet these objectives first were evaluated, about 17 quantitative traits and three qualitative, 39 preselected plants from artichoke germplasm collection of University of Passo Fundo, by presenting desired traits for *in natura* consumption (violet color, circular shape and absence of thorns on the bracts). For obtain an improved artichoke population, was used to phenotypic recurrent selection, where, from a population basis of 147 plants, three cycles of recurrent selection were conducted (C0, C1 e C2). In each cycle was performed the same procedures: evaluation,

selection and recombination of selected plants to generate the next generation of recurrent selection, the eventuation the plants in each cycle, was based regarding 12 quantitative and three qualitative traits. The last study constitutes of evaluation of total phenol and antioxidant activity in the artichoke leaves, collected from different plants in each selection cycle (C0, C1 e C2). The study behavior of gene frequencies and genetic variability within each cycle was performed with microsatellite and SRAPs molecular markers. For such was extracted genomic DNA from 30 different plants in each recurrent selection cycle (C0, C1 e C2). The assessments were used 15 microsatellites and seven SRAPs combination, the amplification products was observed in polyacrylamide gels. The extracts were prepared by infusion, and the evaluation of total phenol and reduction power were made immediately after preparation of the extract. Regarding the results in the first study, were significant differences for nine of 17 quantitative traits evaluated and ten of 39 preselected plants and ten evaluated plants, being possible to select ten plants with desirable quantitative traits. The correlation coefficients found can be used as tools for indirect selection for artichoke breeding. The qualitative traits also varied among the plants, being possible to select nine plants with desirable qualitative traits for *in natura* consumption. The second experiment, the process of phenotypic recurrent selection results in an total increase in the frequency of violet head, head shapes and absence of thorns in the population. There was significant variation among the cycles for most of the quantitative traits. About the final genetic progress, the primary head length and diameter, secondary head number and diameter and bottom thickness showed significant gains.

The analysis with molecular markers that were is changes in allele frequencies and there was no reduction of genetic variability in three cycles of recurrent selection. As the chemical analysis, the total phenol content and antioxidant activity resent tendency to reduce during the three cycles. These results indicate the influence of the breeding scheme used on the vegetative parts chemical properties of plants from three phenotypic recurrent selections.

**Key words:** *Cynara cardunculus* [var. *scolymus* (L.) Fiori], improved population, *in natura* consumption, selection plants.

## 1 INTRODUÇÃO

A alcachofra *Cynara cardunculus* [var. *scolymus* (L.) Fiori] é uma cultura de múltiplos propósitos, pois, além da comercialização das inflorescências como produto hortícola para consumo *in natura* ou industrializado, a biomassa verde pode ser utilizada na produção de energia, fabricação de papel e como forragem. Os extratos das folhas são úteis na preparação de bebidas alcoólicas e medicamentos, as raízes e sementes para extração de inulina e óleos respectivamente (ROTTENBERG & ZOHARY, 1996; RACCUIA & MELILLI, 2007). Todas estas aplicações demonstram o amplo espectro de exploração da cultura como produto comercial.

É uma alógama, protândrica, originada do mediterrâneo que foi cultivada inicialmente pelos árabes. Em decorrência do processo de domesticação e seleção pelo agricultor, muitas variedades evoluíram resultando na diversidade encontrada hoje e na difusão da cultura para outros países da Europa (COINTRY et al., 1999;

MAURO et al., 2009). Desses países, a Itália se destaca por concentrar a maior produção mundial de alcachofra (474.000 t) e área planta de 50.033 ha. Além disso, agrega o primeiro e mais extenso pool gênico da cultura, o que sugere que este seja o local de domesticação e posterior difusão da alcachofra (SONNANTE et al., 2007; MAURO et al., 2009; IERNA & MAUROMICALE, 2010; MAURO et al., 2012).

O segundo país que mais produz alcachofra é a Espanha (18.831 ha - 215.000 t), seguida pela França (10.317 ha - 55.000 t) e Grécia (2.983 ha - 25.000 t). A alcachofra é cultivada também na Turquia e Irlanda, Norte da África (Egito, Marrocos, Tunísia), Estados Unidos, China e Sul da América (Argentina, Chile e Peru) (SONNANTE et al., 2007; MAURO et al., 2009; CECCARELLI et al., 2010; MAURO et al., 2012).

No Brasil, foi introduzida pelos imigrantes europeus, principalmente italianos, há cerca de cem anos, no início do século XX (DONIDA, 2004). A maior área cultivada situa-se no estado de São Paulo e corresponde a 80% do total cultivado no país. Nesse estado a variedade mais cultivada é a “Roxa de São Roque”, com capítulos de coloração violeta e destinada ao consumo *in natura* (FILHO et al., 2009).

Segundo Barcellos (2013), os produtores de alcachofra de São Paulo alcançam um lucro líquido entre R\$ 10 mil e R\$ 12 mil por hectare (ha), o dobro do custo da lavoura, estimado em R\$ 6.000/há, movimentando em torno de R\$ 6 milhões /ano com a cultura.

De acordo com Donida (2004) e Moraes et al. (2010), no Rio Grande do Sul a alcachofra recebeu atenção a partir 1994, pelo incentivo da Cooperativa Triticola de Erechim Ltda. Através de um convênio com a Universidade de Catânia (Itália) a cooperativa desenvolveu a cultivar Nobre, de capítulos com coloração verde e exclusiva para uso industrial. Entretanto alguns fatores têm impedido a expansão da cultura no estado, como por exemplo, a falta de genótipos aptos ao consumo *in natura* adaptados às condições edafoclimáticas dessa região e o fato das cultivares brasileiras de propagação sexual deixar a desejar quanto à uniformidade, produtividade e qualidade de capítulo.

Agrega-se ainda, a estes fatores, a falta de conhecimento da maioria dos agricultores sobre o potencial econômico, as condições de cultivo e as estratégias de manejo para o estabelecimento e manutenção da cultura durante o ciclo de produção. Portanto, há necessidade do desenvolvimento de novos materiais que atendam os aspectos citados acima, bem como, do estabelecimento de estratégias de fomento à produção da cultura no estado, principalmente como uma alternativa rentável ao pequeno agricultor.

Nesse contexto o Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Universidade de Passo Fundo, desde 2004, vem realizando estudos sobre a cultura da alcachofra. Esses inicialmente focalizaram no estabelecimento de um protocolo de micropropagação para a variedade Nobre (AUGUSTIN et al., 2005; AUGUSTIN et al., 2006; CASANOVA et al., 2007; BOSCARDIN et al., 2007; COMIN et al., 2007; SUZIN et al., 2008; GRANDO et al., 2011). Em 2009, com a aprovação de um projeto junto ao Pólo de Desenvolvimento



Tecnológico da Secretaria de Agricultura do Estado às atenções voltaram para o melhoramento genético da cultura. O trabalho iniciou com o estabelecimento, caracterização e avaliação de uma coleção de germoplasma, visando conhecer a variabilidade útil para o melhoramento genético.

Da avaliação desta coleção foram selecionados genótipos, com caracteres de capítulo desejáveis ao consumo *in natura* (formato circular, coloração violeta e sem espinhos nas brácteas) para ser utilizados como parentais, em esquemas de hibridação, logrando o desenvolvimento de uma variedade de polinização aberta, propagada por sementes, com características que atendam as necessidades dos produtores e mercado consumidor (REOLON-COSTA et al, 2012).

Dentro desse aporte, a seleção recorrente fenotípica é uma estratégia para produção de uma população melhorada com uniformidade para os caracteres de interesse. A seleção recorrente fenotípica é uma técnica de melhoramento de populações que tem por objetivo a concentração de alelos favoráveis mantendo a variabilidade genética da população (CARVALHO et al., 2003; BORÉM & MIRANDA, 2009) onde a seleção é feita com base somente no fenótipo do indivíduo, sem teste de progênies. Esse método consiste em repetir os mesmos procedimentos ciclo após ciclo de seleção (avaliação, seleção e recombinação) tornando o acúmulo de alelos favoráveis um processo contínuo e deslocando-se a média da população ao longo de cada ciclo de seleção (BORÉM & MIRANDA, 2009).

A eficiência dessa metodologia é maior quando a seleção é aplicada sobre caracteres qualitativos, governados por poucos genes

de efeito maior, com alta herdabilidade, nos quais os efeitos do ambiente são menores que nos quantitativos (CARVALHO et al., 2003; BORÉM & MIRANDA, 2009). No entanto, a pressão de seleção aplicada sobre caracteres qualitativos como: formato de capítulo, coloração e presença de espinhos, não exclui a possibilidade de haver alterações nas médias das características quantitativas. De maneira que a estimativa dos ganhos genéticos ao longo do processo seletivo nos permite verificar o comportamento dos caracteres quantitativos, sendo uma maneira de avaliar a eficiência do método de melhoramento utilizado (SILVA & VIEIRA, 2010).

A probabilidade de obtenção de ganhos genéticos, dentro do esquema de seleção recorrente é maior se a variabilidade da população for mantida em cada ciclo de seleção, visando a manutenção do vigor. Assim, a investigação dessa variabilidade é fundamental para evitar perdas de diversidade e consequentemente de futuros progressos genéticos (SANTOS et al., 2008). Nesse sentido o uso de marcadores moleculares do tipo microssatélites de DNA e Sequências relativas a polimorfismo amplificado são ferramentas eficientes para acessar essa variabilidade já que permitem acessar diretamente o genótipo do indivíduo.

Os marcadores moleculares microssatélites já foram desenvolvidos e testados na espécie *Cynara cardunculus* (ACQUADRO et al., 2003, 2005a, b, 2009; CASADEVALL et al., 2011) e um substancial número de ensaios já foram desenvolvidos. As vantagens dessa classe de marcadores são: natureza codominante, hipervariabilidade nos padrões de banda, requer baixa quantidade de DNA para análise em reação em cadeia de polimerase (PCR) e

técnicas de eletroforese, níveis elevados de polimorfismo e reprodutibilidade (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1995; BIANCO et al., 2011).

Já os marcadores moleculares SRAPs (Sequências relacionadas a polimorfismo amplificado) são de caráter dominante e possuem duas grandes vantagens: não é necessário o conhecimento prévio de sequências específicas no genoma em estudo e são multilocus com grande poder informativo. Em alcachofra estes marcadores já foram usados em estudos de variabilidade, construção de mapas genéticos e identificação de genes (MARTIM et al., 2008; CASADEVALL et al., 2011).

As alterações morfológicas e fisiológicas nas características das plantas devido ao melhoramento genético podem resultar em modificações no teor de compostos secundários, como por exemplo, compostos fenólicos, os quais se destacam pela atividade antioxidante (MILANI et al., 2002). A alcachofra, por possuir altos teores desses compostos nas folhas e também nas partes comestíveis (brácteas e fundo) tem sido explorada pela indústria farmacêutica na fabricação de medicamentos fitoterápicos (MOGLIA et al., 2008; KÜÇÜKGERGIN et al., 2010). Assim, a avaliação do conteúdo de fenólicos e da capacidade antioxidante nas folhas de alcachofra de plantas submetidas ao melhoramento é importante para verificar a influência do melhoramento nos parâmetros químicos da planta e identificar indivíduos com potencial medicinal, que possam ser usados como genitores em cruzamentos visando melhorar a qualidade química da planta.

Considerando os aspectos acima, os objetivos deste trabalho foram:

- 1) Avaliar e selecionar plantas de alcachofra com aptidão ao consumo *in natura* e estabelecer correlações entre os principais caracteres quantitativos de interesse seletivo;
- 2) Obter uma população de alcachofra melhorada para caracteres de qualidade de capítulo pela metodologia de seleção recorrente fenotípica, bem como estimar os ganhos obtidos para caracteres quantitativos;
- 3) Avaliar o impacto da seleção nas frequências alélicas nas três gerações de seleção recorrente e estimar a variabilidade genética dessas, pelo emprego de marcadores moleculares microssatélites (SSRs) e sequências relativas a polimorfismo amplificado (SRAPs);
- 4) Determinar a concentração de fenólicos totais e capacidade antioxidante em uma população submetida a vários ciclos de seleção recorrente fenotípica e verificar alterações nessas concentrações ao longo do processo seletivo.

Já, as hipóteses que nortearam este trabalho de tese foram:

- 1) É possível selecionar plantas com caracteres qualitativos e quantitativos desejáveis ao consumo *in natura*, e estabelecer correlações entre as características quantitativas;
- 2) A seleção recorrente fenotípica é eficiente para aumentar a frequência de alelos favoráveis e os ganhos genéticos para características de interesse ao consumo *in natura*;
- 3) A análise molecular por microssatélites de DNA é uma ferramenta adequada para monitorar a variabilidade genética e

as alterações das frequências alélicas ao longo de três ciclos de seleção recorrente fenotípica;

- 4) O melhoramento genético influencia nas propriedades químicas da alcachofra.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Caracterização da cultura

O gênero *Cynara* (Asteraceae) é nativo da bacia do mediterrâneo. Este gênero é constituído por um complexo de oito espécies, entre estas, a espécie *C. cardunculus* L, classificada por Rottenberg & Zohary (1996) e Rottenberg et al. (1996) em três variedades botânicas: *C. cardunculus* [var. *sylvestris* (L.) Lam] (cardo silvestre) provável antecessor das outras duas variedades incluídas neste grupo, o cardo cultivado (*C. cardunculus* [var. *altilis* (L.) DC]) e a alcachofra cultivada (*C. cardunculus* [var. *scolymus* (L.) Fiori]) (CECCARELLI et al., 2010; LANTERI et al., 2012), objeto de estudo deste trabalho.

A alcachofra é uma cultura alógama, diploide, com  $2n = 24$  cromossomos, na qual coexistem dois sistemas de propagação: sexual (sementes) (SONNANTE et al., 2007) e assexual (broto axilares). Quando propagada por sementes a semeadura é feita em estufa e o transplante no campo realizado quando as plantas atingem quatro a cinco folhas verdadeiras. A propagação vegetativa é feita por gemas e brotos axilares da base planta, os quais são coletados, estabelecidos em estufa e posteriormente levados ao campo onde completam o desenvolvimento do ciclo.

Apresenta polinização cruzada com dicogamia do tipo protândria (flores hermafroditas com órgão femininos e masculinos viáveis em momentos diferentes). Em cada flor da inflorescência do tipo capítulo, as anteras maturam primeiro que o estilete (FOURY et al., 1983; MAUROMICALE & IERNA, 2000).

Baggio et al. (2009) descreveram a biologia floral da cultivar brasileira de alcachofra Nobre observando a existência de aproximadamente 1.400 flores por inflorescência, as quais apresentavam morfologia tubulada, hermafrodita e com simetria radial. Estes autores estabeleceram uma escala de 15 estádios de desenvolvimento do capítulo, compreendendo desde a emissão do capítulo até a dispersão dos frutos, indicando o estágio 4 como o estágio de coleta para comercialização.

Quanto a condições de cultivo, tem fotoperíodo crítico de 10.5 horas (BASNIZKI & ZOARY, 2010). A transição do estágio vegetativo para o reprodutivo exige acúmulo de horas frio (vernalização) que deve ocorrer logo após o plantio, com a exposição das mudas durante 8 a 10 dias (190 a 250 horas) a temperaturas entre 7 °C -10 °C (BRATSCH, 2009).

Alcachofra é utilizada em regiões do Mediterrâneo desde o século IV A.C como alimento e também para uso medicinal. Cultivada inicialmente pelos árabes, em decorrência do processo de domesticação e seleção pelo agricultor, muitas variedades evoluíram resultando na diversidade encontrada hoje e na difusão para outros países da Europa (COINTRY, 1999; MAURO et al., 2009).

Bem adaptada ao clima do mediterrâneo, contribui significativamente para a estabilidade econômica dos países desta

região onde são cultivados 93.000 ha, representado aproximadamente 70% da área total cultivada no mundo (IERNA & MAUROMICALE, 2010). Destes países, a Itália destaca-se por concentrar a maior produção mundial de alcachofra (474. 000 t) sendo o terceiro produto hortícola de importância econômica no país depois do tomate e da batata. Além disto, este país agrega o primeiro e mais extenso pool gênico desta variedade botânica, sugerindo que este seja o local de domesticação e posterior difusão da cultura (PIGNONE & SONNANTE 2004; SONNANTE et al., 2007; SONNANTE et al., 2008; MAURO et al., 2009; MAURO et al., 2012).

Esta biodiversidade caracteriza-se por um grande número de grupos varietais clonais locais, com alto nível de heterozigose. Existem cerca de 120 genótipos que variam quanto ao período de implantação à colheita e características dos capítulos (dimensão, forma, espinhosidade das brácteas e coloração) (PANDINO et al., 2011; MAURO et al., 2012). No entanto, destes apenas 11-14 são comercialmente importantes (PANDINO et al., 2011).

Porceddu et al. (1976) propôs a organização deste germoplasma em quatro grupos varietais definidos com base em características do capítulo: (I) ‘Spinosi’, caracterizado por possuir capítulos alongados com espinhos nas brácteas e folhas (‘Spinoso di Palermo’, ‘Spinoso Sardo’), ‘Violetti’ constituído de capítulos de tamanho médio, cor violeta e com espinhos pequenos nas brácteas (‘Violetto di Toscana’, ‘Nostrano’), (III) ‘Romaneschi’, neste grupo são incluídas plantas com capítulos esféricos ou sub-esféricos e sem espinhos (‘Castellamare’, ‘Tondo di Paestum’, ‘Blanc Hyerois’) e (IV) ‘Catanesi’, um grupo respectivamente pequeno, com capítulos

alongados e sem espinhos ('Violetto di Sicilia', 'Violet de Provence') (DELLACECCA et al., 1976).

O segundo país que mais produz alcachofra é a Espanha (215.000 t) onde predomina a variedade de propagação vegetativa 'Blanca de Tudela' e a cultivar francesa 'Violet de Provence'. Já na França (55.000 t) que ocupa o terceiro lugar mundial em produtividade, as variedades tradicionais de alcachofra são divididas em três grupos: (1) 'Brittany artichokes', no qual se incluem as cultivares 'Camus de Bretagne' e 'Gros Vert de Laon', (2) 'Midi artichokes' constituído pelas variedades 'Violet de Provence', 'Violet de Hyères' e 'Violet du Gapeau' e (3) 'Blanc Hyerois'.

A espécie é cultivada também na Grécia, Turquia, Irlanda, Norte da África (Egito, Marrocos, Tunísia), Estados Unidos, China e Sul da América (Argentina, Chile e Peru) (SONNANTE et al., 2007; MAURO et al., 2009; CECCARELLI et al., 2010; MAURO et al., 2012).

A área cultivada no Brasil, não chega a ser significativa em nível mundial, havendo necessidade de maior difusão da cultura. Nesse país a alcachofra foi introduzida pelos imigrantes europeus, principalmente italianos, há cerca de cem anos, no início do século XX (DONIDA, 2004). É cultivada no sul e sudeste, sendo São Paulo o maior produtor, responsável por 80% da área cultivada, onde predomina a variedade "Roxa de São Roque" que possui capítulos de coloração violeta e é destinada ao consumo *in natura* (FILHO et al., 2009).

No Rio Grande do Sul a espécie recebeu atenção dos horticultores a partir de 1994 pelo incentivo da Cooperativa Tritícola



de Erechim Ltda. Esta estabeleceu um convênio com a Universidade de Catânia (Itália) e desenvolveu a cultivar Nobre, com capítulos verdes, exclusiva para fins industriais. Além disto, criou um programa de produção entre seus associados, com a finalidade de industrializar o produto e oferecer fonte de renda alternativa para os mesmos (DONIDA, 2004; MORAES et al., 2010).

Porém, alguns fatores têm impedido maior expansão da cultura no estado, como: baixa qualidade de capítulo das variedades comerciais existentes, alta heterozigose que resulta em desuniformidade varietal, falta de conhecimento da maioria dos produtores sobre o potencial econômico da cultura, bem como, das condições necessárias para o cultivo. Portanto, há necessidade do desenvolvimento de novas variedades, que apresentem qualidade de capítulo e também do estabelecimento de estratégias para a difusão da cultura entre os agricultores deste estado (MORAES et al., 2010; (RELON-COSTA et al., 2012).

## **2.2 Importância e utilização**

Considerada um alimento funcional pela Comissão Européia de Alimentos Funcionais (FuFoSE) a alcachofra tem importância medicinal e nutricional. É consumida *in natura* ou industrializada tanto variedades exclusivas para consumo fresco e para industrialização (LANTERI et al., 2004; LANTERI & PORTIS, 2008; LANTERI et al., 2012; MAURO et al., 2012).

Para a alimentação as inflorescências (capítulos) imaturas são comercializadas. As partes comestíveis são à base das brácteas, receptáculo floral (fundo) e as brácteas internas (coração) que

representam aproximadamente 30–40% da massa fresca do capítulo e são usadas frescas, enlatadas ou congeladas para a preparação de pratos variados (ACQUADRO et al., 2009).

Conforme Llorach et al. (2002) as folhas, frutos e raízes de alcachofra têm sido explorados como fonte de compostos naturais promotores da saúde, fato que tem atraído à atenção da indústria farmacêutica.

Estudos demonstram que a espécie é rica em fenólicos (PANDINO et al., 2011) como derivados de ácido cafeoilquímico (cinarina e ácido clorogênico). Entre os derivados de ácido cafeoilquímico o mais abundante presente nas folhas e inflorescências é a cinarina (SERGIO et al., 2008).

Outros polifenóis importantes identificados nos tecidos de alcachofra são os flavonóides, principalmente luteolina e antocianinas (LATTANZIO et al., 2002; LLORACH et al., 2002; SCHÜTZ et al., 2004; PANDINO et al., 2011). Considerando os altos níveis de polifenóis contidos nas partes comestíveis e nas folhas, comparada com outras hortícolas, esta espécie é uma importante promissora fonte de antioxidantes (LOMBARDO et al., 2010).

Devido à presença das substâncias citadas acima, a alcachofra exibe muitas propriedades terapêuticas como: hepatoprotetora, anticarcinogênica, antioxidante, antimicrobiana, anti HIV, antifúngica, antiinflamatória e probiótica (LATTANZIO et al., 2009) atua também no sistema urinário, na redução dos níveis de colesterol, útil no tratamento da arteriosclerose e como estimulante da flora intestinal (MOGLIA et al., 2008; KÜÇÜKGERGIN et al., 2010).

As raízes podem ser usadas na extração de inulina, uma frutose, de interesse para a indústria alimentícia e não alimentícia (IERNA & MAUROMICALE, 2010). Este composto tem efeito probiótico, atua na absorção de cálcio, no metabolismo dos lipídeos e na redução de substâncias promotoras de tumores (LATTANZIO et al., 2009).

Quanto às propriedades nutricionais é rica em carboidratos, proteínas, fibras (GOÑI et al., 2005) substâncias nitrogenadas, vitamina C, macronutrientes (Na, K, Ca, Mg) e micronutrientes (Fe, Cu, Mn, Zn) essenciais (PANDINO et al., 2010).

Khaldi et al. (2012) afirmaram ainda que as folhas, flores, frutos e raízes de alcachofra possuem grande quantidade de enzimas proteolíticas, assim os extratos vegetais podem ser usados como coagulante do leite. Coagulantes vegetais baseados em extratos de alcachofra são usados na Espanha, Portugal e Península Ibérica na fabricação de queijos, representando mais um nicho de mercado da cultura (ROSEIRO et al., 2003; KHALDI et al., 2012).

A boa adaptação da alcachofra ao clima do mediterrâneo, sua rusticidade, e grande quantidade de biomassa verde produzida, sugere seu uso como potencial fonte de energia renovável (GONZALES et al., 2004). Sua biomassa lignocelulósica pode ser utilizada na geração de energia (combustível sólido) e na fabricação de papel (GOMINHO et al., 2001; GONZALES et al., 2004; RACCUIA & MELILLI, 2007; IERNA & MAUROMICALE, 2010), outra alternativa de uso para da biomassa verde da alcachofra é como complemento ao Tifton e a alfafa na alimentação de ruminantes (SALLAM et al., 2008).

O óleo extraído das sementes pode ser usado na fabricação de biodiesel (LAPUERTA et al., 2005) depois da extração do óleo dos grãos os resíduos podem ser utilizados na alimentação animal devido à quantidade e qualidade das proteínas encontradas (RACCUIA & MELILLI, 2007; IERNA & MAUROMICALE, 2010).

Para Lanteri et al. (2012) a cultura pode ser explorada também como ornamental devido à variação na arquitetura da planta e beleza de suas inflorescências. Assim pode ser usada como folhagem de jardim ou flor de corte. Seu potencial ornamental se justifica ainda por possuir vida longa no vaso, característica importante na fabricação de arranjos decorativos.

Portanto, a alcachofra é uma cultura de múltiplos propósitos, pois, além da comercialização das inflorescências imaturas como produto hortícola, a biomassa pode ser utilizada para a produção de energia, fabricação de papel e como forragem, os extratos das folhas na preparação de bebidas alcoólicas e medicamentos, as raízes para a extração de inulina e as sementes para a extração de óleos (RACCUIA & MELILLI, 2007).

É importante ressaltar que, devido ao potencial medicinal da cultura, muitos pesquisadores têm realizado estudos de caracterização e quantificação de compostos fenólicos nos capítulos, folhas e hastes de diferentes acessos e variedades, visando à identificação de genótipos com potencial de exploração pela indústria farmacêutica, ou serem incluídos em esquemas de hibridações para a melhoria da qualidade medicinal desta cultura (LOMBARDO et al., 2010; MOGLIA et al., 2010; PANDINO et al., 2011; LOMBARDO et al., 2013).

### **2.3 Melhoramento genético de alcachofra**

O melhoramento genético é o principal sustentáculo para que a agricultura possa disponibilizar alimentos, fibras e energia a sociedade. É um processo que procura alterar geneticamente as plantas de modo a atender as necessidades humanas (BUENO et al., 2001; BORÉM & MIRANDA, 2009). Portanto, é uma atividade que, mediante estudo e manipulação do germoplasma, visa à criação de novos produtos com valor agregado e a introdução de cultivares superiores na agricultura de uma determinada região (BUENO et al., 2001; BORÉM & MIRANDA, 2009).

Assim, as cultivares desenvolvidas pelo melhoramento precisam atender as exigências dos produtores, consumidores e indústria de transformação (BUENO et al., 2001). Os métodos de melhoramento usados no desenvolvimento de uma cultivar dependem, em parte, do conhecimento do modo de reprodução da espécie, das particularidades de polinização, fecundação e desenvolvimento das sementes (BORÉM & MIRANDA, 2009). Portanto, são distintos para espécies alógamas e autógamas, ou são iguais, porém com algumas adaptações.

Segundo os autores acima, em espécies autógamas a integridade genética das cultivares homozigotas é mantida durante o processo reprodutivo, o que não acontece nas alógamas, grupo o qual a alcachofra pertence, devido ao intenso intercâmbio de gametas com diferentes constituições gênicas entre os diversos indivíduos de uma população.

As alógamas são altamente heterozigotas para muitos de seus locos, assim os alelos dominantes mascaram o efeito dos alelos recessivos e quando reproduzidas por via sexual apresentam amplo nível de segregação. Já as autógamias se reproduzem por autofecundação e possuem elevado nível de homozigose (PINTO, 1995; BORÉM & MIRANDA, 2009). Conforme esses aspectos, no melhoramento de plantas alógamas o objetivo é alterar as frequências gênicas da população, aumentando a frequência de alelos favoráveis e reduzindo ou eliminando porcentagem de alelos indesejáveis (PINTO, 1995).

Os métodos de melhoramento usados em outras espécies alógamas, como o milho e girassol, podem ser aplicados em alcachofra com algumas restrições ou modificações decorrentes de sua morfologia floral. A aplicação desses métodos pode gerar variedades de polinização aberta e/ou híbridos, caracterizadas por alta produtividade e uniformidade (BORÉM & MIRANDA, 2009).

O melhoramento genético de alcachofra teve início na França em 1958, nos Estados Unidos em 1974 e Israel em 1981. Atualmente, existem programas na Espanha, Itália e Argentina. A existência de variabilidade em populações de alcachofra somada com as possibilidades de multiplicação vegetativa e sexual permite o uso de diferentes métodos de melhoramento que visem à criação de novos clones por hibridação, obtenção de híbrido F1 e o desenvolvimento de variedades de polinização aberta (COINTRY et al., 1999).

A obtenção dos dois últimos produtos citados acima tem sido o enfoque atual do melhoramento da cultura (CRAVERO et al., 2011). A obtenção destes pode ser dividida em três fases: (1) identificar

ou criar pools de germoplasma, (2) selecionar indivíduos superiores do germoplasma escolhido e (3) desenvolver uma cultivar superior a partir do material selecionado seleções (MARTIN et al., 2010).

Dentro desta nova abordagem, o primeiro grupo de híbridos comerciais de alcachofra lançados no mercado foi Hu044, Hu137, Hu223, Orlando, N4052, N4053, N4055, INRA9300, INRA9334, H386 e H374 (BARBIERI, 1996). Hoje já existem novos híbridos comerciais com alta qualidade e uniformidade de capítulo, desenvolvidos pela empresa Nunhens. Exemplos destes são os híbridos: Madrigal, Opal, Concerto e Sinfonny. No entanto, apesar dos esforços dos melhoristas de alcachofra no desenvolvimento de híbridos F1, esta tecnologia se confronta com alguns fatores, que comprometem sua viabilidade econômica como: (1) somente parte dos genes é explorada, (2) a heterose é explorada de modo aleatório, atingindo um teto difícil de ser ultrapassado, (3) somente em espécies em que as sementes híbridas são produzidas com facilidade é possível explorar a heterose e (4) a produção de sementes híbridas só é viável onde houver facilidade de processamento e distribuição (CARVALHO et al., 2003).

Agrega-se ainda aos fatores acima, a dificuldade de propagação dos híbridos da cultura por falta de conhecimento da correta gestão do ciclo cultural, capacidade de adaptação dos novos híbridos F1 para diferentes ambientes de cultivo e o alto custo das sementes híbridas (BIANCO et al., 2011). Considerando esses aspectos a obtenção de variedades de polinização aberta é uma alternativa ao uso dos cultivares híbridos. De maneira que muitos programas de melhoramento de alcachofra e também de outras

hortaliças, tem se dedicado no desenvolvimento de cultivares de polinização aberta (MELO, 2001).

As cultivares de polinização aberta são obtidas pela livre polinização ao acaso de um grupo de indivíduos selecionados. São conhecidas também como variedades (BORÉM & MIRANDA, 2009).

Entre os métodos de melhoramento utilizados para a criação de variedades de polinização aberta de alcachofra podemos citar o uso da seleção recorrente como uma estratégia para chegar a populações melhoradas com uniformidade para caracteres de interesse seletivo. Este método tem por objetivo a concentração de alelos favoráveis, mantendo a variabilidade genética da população e consiste em repetir os mesmos procedimentos ciclo após ciclo de seleção, tornando o processo de acúmulo dos alelos favoráveis contínuos e deslocando-se a média por meio dos ciclos de seleção. As populações melhoradas através da seleção recorrente podem ser utilizadas diretamente como variedades de polinização aberta ou então para obtenção de linhagens endogâmicas utilizadas na produção de híbridos (CARVALHO et al., 2003; BORÉM & MIRANDA, 2009).

Um ciclo de seleção recorrente envolve basicamente quatro fases que são: a) obtenção de progênies: meio irmãos, irmãos germanos e progênies parcialmente endogâmicas  $S_1$  e  $S_2$ , b) avaliação das progênies: deve ser realizado em ensaios envolvendo repetições e locais, por meio de delineamento experimental apropriado, c) seleção das melhores progênies e d) recombinação de progênies selecionadas: tem por finalidade gerar variabilidade para o próximo ciclo de seleção (BORÉM & MIRANDA, 2009).



Os métodos de seleção recorrente podem ser divididos em dois tipos: aqueles onde não é feita a avaliação das progênes (Seleção Recorrente Fenotípica) e aqueles onde a avaliação das progênes é realizada através de testes de combinação (Seleção recorrente para capacidade geral de combinação, Seleção recorrente para capacidade específica de combinação e Seleção recorrente recíproca) (BUENO et al., 2001; CARVALHO et al., 2003; BORÉM & MIRANDA, 2009).

De acordo com Bueno et al. (2001) a seleção recorrente fenotípica é apropriada para os casos em que a seleção na população inicial é feita com base no fenótipo da planta, portanto, tem sido indicada para caracteres de alta herdabilidade. É relativamente simples, pois os caracteres são avaliados no próprio indivíduo, também não se faz a autofecundação, podendo-se completar um ciclo em cada geração.

Já a seleção recorrente com capacidade geral de combinação trata-se de um método mais indicado para caracteres controlados por genes de efeito aditivo, muito afetado pelo ambiente, portanto de herdabilidade baixa. O qual inicia com a autofecundação de um número suficiente de plantas de uma população heterogênea e simultâneo cruzamento das plantas autofecundadas com um testador de base genética ampla que pode ser uma variedade de polinização aberta ou um híbrido, a fim de avaliar a capacidade geral de combinação. A seguir são conduzidos ensaios de produção onde são identificados os genótipos com melhor desempenho, os quais são cruzados entre si (BORÉM & MIRANDA, 2009).

Ao contrário do método citado acima, a seleção recorrente para capacidade específica de combinação utiliza um testador de base

genética estreita, como uma linhagem endogâmica ou mesmo um híbrido simples. A pressuposição básica do método é que as interações alélicas de sobredominância são altamente responsáveis pelo vigor híbrido ou heterose. Assim o método oferece a possibilidade de se concentrar numa população heterogênea os alelos que podem proporcionar máxima heterose em relação a um determinado testador (BUENO et al., 2001; CARVALHO et al., 2003; BORÉM & MIRANDA, 2009).

Conforme os autores acima, dentro dos tipos de seleção recorrente encontram-se ainda a seleção recorrente recíproca, esta explora vários tipos de ação gênica conjuntamente como os efeitos aditivos dos genes e as interações alélicas de dominância parcial, completa e sobredominância. Se aceita que esse método seja geneticamente correto, devendo ser mais eficiente, que os outros esquemas de seleção recorrente. A execução do método se dá através das seguintes etapas: (1) autofecundação de plantas da população A e cruzamento simultâneo com a população B de modo igual às plantas de B são autofecundadas e também cruzadas com outras de A (2) avaliação das progênies obtidas dos cruzamentos em ensaios, (3) recombinação das melhores linhagens  $S_1$  de A identificadas na etapa anterior. O mesmo é feito em relação às melhores linhagens  $S_1$  de B.

Em alcachofra existem registros do uso da seleção recorrente fenotípica no desenvolvimento de populações de polinização aberta. Essa metodologia foi estudada por Cravero et al. (2003). Estes autores avaliaram a resposta de seleção para caracteres produtivos em clones derivados dos ciclos (C0 e C1) de seleção recorrente fenotípica e observaram que a pressão de seleção aplicada

no ciclo C0 resultou em incremento nos caracteres produtivos como número de capítulos por planta, rendimento total e rendimento de mercado e também observaram incremento de 25% no rendimento total e rendimento de mercado nos clones derivados do ciclo C0.

Com o trabalho acima citado, os autores puderam concluir que a polinização livre pode gerar novas combinações genéticas que podem ser utilizadas como clones, e que a pressão de seleção aplicada foi efetiva para melhorar características produtivas. Essas informações podem ser úteis para melhorar o potencial genético do cultivo, proporcionando a concentração de alelos favoráveis e uma variedade que seja comercialmente aceitável através do uso da seleção recorrente fenotípica (CRAVERO et al., 2003).

Um dos fatores que comprometem a utilização e viabilidade econômica das variedades de polinização aberta, fato muito comum em populações melhoradas de alcachofra é a grande diversidade encontrada nessas que leva o aparecimento de caracteres indesejáveis ao mercado consumidor (ESTEVA, 1999). Porém, se bem conduzido o processo de desenvolvimento destes materiais, o uso destas variedades em alcachofra pode ser vantajoso.

Entre as vantagens podemos citar: (1) alta sanidade do material inicial, transplantando para o campo plantas saudáveis, em contraposição com a reprodução das enfermidades do sistema de propagação vegetativa, (2) produção homogênea do material transplantado e alta porcentagem de pega no campo o que implica redução nos custos de implantação e (3) facilidade de aquisição das sementes e custo das sementes (AYALA, 2011). Outro ponto positivo é que a obtenção dessas variedades é um processo de menor

dificuldade que o desenvolvimento de híbridos, pois, consiste na seleção de linhagens seguidas pela autopolinização e outra vez seleção, até conseguir uma variedade mais uniforme possível, facilitando assim o processo de obtenção de sementes e tornando-as mais baratas que as sementes híbridas (GAMAYO et al., 2005).

#### **2.4 Marcadores moleculares em alcachofra**

A análise da variação na sequência de DNA é de grande importância para estudos genéticos, pois propicia maior eficiência na conservação e uso dos recursos genéticos e ainda aumenta a eficiência dos programas melhoramento vegetal. Atualmente com os avanços obtidos na genética molecular têm sido desenvolvidos diversos marcadores que detectam o polimorfismo diretamente no DNA, os marcadores moleculares.

A utilização desses marcadores moleculares permite acessar a variabilidade não detectável em nível fenotípico. Entre as vantagens na utilização dos marcadores moleculares podemos citar: identificação de grande número de polimorfismos, acesso direto ao genótipo sem a influência do ambiente, do estágio de desenvolvimento ou tipo de célula da planta (VARSHNEY et al., 2005; FALEIRO, 2007).

Estudos com marcadores moleculares em alcachofra têm sido usados na identificação de variedades, avaliação de diversidade genética, investigações de parentesco e construção de mapas genéticos (BIANCO et al., 2011).

Existe uma grande quantidade de marcadores moleculares de DNA, específicos para determinados propósitos. Dentre eles

destacam-se os de natureza co-dominante, como os RFLPs (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) e SSRs (*Simple Sequence Repeats*); e os de natureza dominante, como os RAPDs (*Randomly Amplified Polymorphic DNA*) e AFLPs (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1995; VARSHNEY et al., 2005; FALEIRO, 2007).

Os marcadores microssatélites são um tipo de marcador molecular obtido por PCR (Reação em cadeia de polimerase) que em geral, constituem-se de um a quatro nucleotídeos repetidos em tandem. A variação encontrada no tamanho dos produtos do PCR resulta da ocorrência de diferentes números de unidades repetidas dentro da estrutura do microssatélite. Essa variação pode ser originada pelo *crossing-over* desigual ou erro da DNA polimerase durante o processo de replicação (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1995; YONG-JIN PARK et al., 2009; CASADEVALL et al., 2011;) e pode ser visualizada, porque os primers são desenhados para se anelarem na região adjacente ao microssatélite.

A classe de marcadores acima descrita possui as seguintes vantagens: natureza codominante, alto conteúdo de informação genética, alto nível de polimorfismo, ampla distribuição pelo genoma, além de ser um método, rápido e fácil de ser desenvolvido se já existirem marcadores desenvolvidos para a espécie em estudo (RAJEEV K. VARSHNEY et al., 2005; YONG-JIN PARK et al., 2009; ).

Acquadro et al. (2003) foram os primeiros a reportar o desenvolvimento de microssatélites para alcachofra. No referido trabalho os autores relatam o desenvolvimento de nove

microssatélites, sendo quatro obtidos através da avaliação de sequências encontradas no Genbank e cinco pela metodologia Biotina/Streptavidina. Mais tarde Acquadro et al. (2005a) descreveram o desenvolvimento de mais 14 microssatélites para *Cynara cardunculus* utilizando uma nova abordagem definida pelos autores como bibliotecas de microssatélites amplificados, que combina polimorfismo no comprimento de fragmentos amplificados (AFLP) e bibliotecas enriquecidas de primer. Posteriormente, Acquadro et al. (2005b), utilizando uma variação do método citado acima, desenvolveram mais nove primers capazes de amplificar microssatélites em alcachofra.

A partir do desenvolvimento desses primers um substancial número de ensaios foram realizados em alcachofra para avaliar a diversidade genética (MAURO et al 2009; PORTIS et al., 2005a, b, c) e para a construção de mapas genéticos (LANTERI et al., 2006; PORTIS et al., 2009).

Outra classe de marcadores usada em alcachofra são os SRAPs ou sequência relacionada a polimorfismo amplificado. Esse marcador é reconhecido como sendo útil no mapeamento genético e identificação de genes (LI & QUIROS, 2001) e possuem maior consistência e repetibilidade que os RAPD e necessitam de menos trabalho e tempo do que técnica AFLP (LI & QUIROS, 2001; FERRIOL et al, 2003).

Entre os estudos sobre a utilização dos SRAPs em alcachofra destacam-se o trabalho de Martim et al. (2008) que utilizaram está classe de marcadores da identificação de genes associado a duas características importantes na cultura: coloração de

capítulo e precocidade e Martim et al. (2013) no desenvolvimento de um mapa de ligação para a espécie *Cynara cardunculus*.

Considerando os aspectos acima os marcadores moleculares de DNA são uma ferramenta muito útil para o melhoramento genético de alcachofra, pois possibilita o entendimento da extensão e distribuição da variabilidade genética de uma espécie (CRINO et al., 2008) ponto de partida para qualquer programa de melhoramento.

## CAPÍTULO I

### SELEÇÃO DE PLANTAS DE ALCACHOFRA E ANÁLISES DE CORRELAÇÃO ENTRE CARACTERES QUANTITATIVOS

ANGÉLICA REOLON DA COSTA<sup>1</sup>

**RESUMO** - Este trabalho objetivou avaliar e selecionar plantas de alcachofra com aptidão ao consumo *in natura* e estabelecer correlações entre os principais caracteres quantitativos de interesse seletivo. Foram avaliadas 39 plantas pré-selecionadas da coleção de germoplasma de alcachofra da Universidade de Passo Fundo por apresentarem características desejáveis ao consumo *in natura* tais como: coloração violeta, formato circular e ausência de espinhos das brácteas externas. Essas plantas foram clonadas, ou seja, coletaram-se brotos axilares da base das mesmas, os quais foram mantidos em estufa até o momento do plantio no campo. O experimento foi estabelecido no campo em abril de 2010, em delineamento experimental completamente casualizado, utilizando-se quatro a seis repetições (brotações) por planta matriz e avaliadas quanto a 17 caracteres quantitativos e três qualitativos. Os dados quantitativos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Para verificar a relação entre os caracteres quantitativos foi realizada também a análise de correlação de Pearson. Para as características qualitativas

---

<sup>1</sup>Bióloga, Mestre em Agronomia, Doutoranda em Agronomia, Programa de Pós - Graduação em Agronomia – Universidade de Passo Fundo.



foram realizadas análises visuais para caracterização da plantas. Quanto aos resultados obtidos, houve diferenças significativas para nove das 17 características quantitativas e dez das 39 plantas pré - selecionadas se destacaram por apresentar maiores valores para: comprimento e largura da base das brácteas, duração da colheita, número, altura, diâmetro e massa fresca média dos capítulos secundários, total de capítulos por planta e rendimento. Quanto ao grau de correlação entre os caracteres quantitativos, as correlações positivas relevantes foram: massa fresca do fundo com diâmetro e espessura do fundo, massa fresca do capítulo primário com massa fresca do fundo, altura média dos capítulos secundários e duração do período de colheita, rendimento com número de capítulos secundários e total de capítulos por planta. O rendimento ainda demonstrou correlação negativa com massa fresca dos capítulos secundários, portanto é mais influenciado pelo número de capítulos do que pela massa fresca dos mesmos. As características qualitativas também variaram entre as plantas, sendo possível selecionar nove plantas com caracteres qualitativos desejáveis ao consumo *in natura*, ou seja, com formato circular, coloração violeta e sem espinhos nas brácteas externas. Com base nestes resultados, existe variabilidade entre as 39 plantas, para os caracteres quantitativos e qualitativos avaliados, sendo possível selecionar plantas superiores quanto às características de interesse ao mercado *in natura* e os índices de correlação encontrados podem ser usados como ferramentas de seleção indireta, no melhoramento da cultura.

**Palavras chaves:** Consumo *in natura*, *Cynara cardunculus* [var. *scolymus* (L.) Fiori].

## **SELECTION OF ARTICHOKE PLANTS AND CORRELATION BETWEEN QUANTITATIVE TRAITS**

**ABSTRACT** - This work aimed to evaluate and select artichoke plants for *in natura* consumption and establish correlation between main quantitative traits of selective interest. To this 39 preselected plants, from artichoke germplasm collection of University of Passo Fundo, were evaluated by presenting desired traits for *in natura* consumption as: violet color, circular shape and absence of thorns on the bracts. These plants were cloned, in other words, lateral buds were collected and kept in a greenhouse until planting in the field. The sprouts were established in the field in April 2010, in completely randomized design, with 4 to 6 replicates (sprouts) per mother plant and evaluated for 17 quantitative traits and three qualitative. The quantitative data were submitted to variance analysis (ANOVA) and means were compared by Tukey's test, 5% error probability, and Pearson correlation. Qualitative traits were analysed visually to characterize the plants. There were significant differences for nine of 17 quantitative traits evaluated and ten of 39 preselected plants stood out for the highest values: bract base length and thickness; harvest period; secondary head number, high, diameter and fresh mass; heads per plant and yield. The positive correlations between quantitative traits were: bottom fresh mass with diameter and bottom thickness; Primary head fresh mass with bottom fresh mass, secondary head high

and harvest period; yield with secondary head number and heads per plant. Yield showed negative correlation between secondary head fresh mass, therefore it is more influenced by the head number than head fresh mass. The quantitative traits also varied among the plants, being possible to select nine plants with desirable quantitative traits for *in natura* consumption, in other words, circular shape, violet color and no thorns on the bracts. Based on these results, there is variability among the 39 plants, for the quantitative and qualitative traits evaluated, being possible select superior plant as traits for *in natura* market and the correlation coefficients found can be used as tools for indirect selection for artichoke breeding.

**Key words:** *Cynara cardunculus* [var. *scolymus* (L.) Fiori], *in natura* market.

## 1 INTRODUÇÃO

Em contraste com outras culturas hortícolas, não há intensivos programas de melhoramento para alcachofra no Brasil. Da mesma forma, há poucas cultivares adaptados ao estado do Rio Grande do Sul, sendo que as disponíveis comercialmente não apresentam a uniformidade necessária e exigida pelo mercado com relação aos parâmetros de qualidade para consumo *in natura* (REOLON-COSTA, 2012).

O estabelecimento de um programa de melhoramento genético nessa cultura objetivando o desenvolvimento de materiais adaptados ao RS e uniformes principalmente quanto à forma (circular), cor dos capítulos (violeta) e espinhosidade das brácteas

(ausência de espinhos) poderia disponibilizar variedades superiores para os produtores da região e incentivo na difusão de uma nova e rentável alternativa de cultivo. Para isso é necessária a existência de variabilidade genética para esses caracteres (COINTRY et al., 1999).

Se esta variabilidade está presente, a etapa posterior é a seleção de genótipos e/ou plantas individuais que possuam características desejáveis ao consumo *in natura*. Estes genótipos podem ser utilizados como parentais em hibridações, visando, por exemplo, a conformação de uma população base com variabilidade suficiente para dar início ao processo de seleção recorrente fenotípica.

Dentro desse processo, um fator importante é o grau de correlação entre os caracteres que estão sendo avaliados (CARVALHO et al., 2003). Portanto, os coeficientes de correlação podem ser utilizados como critérios de seleção associando uma característica de fácil avaliação com outra de acesso mais difícil ou demorado.

Os objetivos deste capítulo foram avaliar e selecionar plantas com aptidão ao consumo *in natura* e estabelecer correlações entre os principais caracteres quantitativos de interesse.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo constou da avaliação de 39 plantas pré-selecionadas da coleção de germoplasma de alcachofra da Universidade de Passo Fundo por apresentarem características desejáveis ao consumo *in natura* tais como: formato circular, coloração violeta e ausência de espinhos nas brácteas externas. Estes indivíduos são originados das variedades: VR - Verde redonda (11 plantas), VRM - Verde redonda melhorada (19 plantas), RM - Romanesca (5 plantas), VS - Violeta de Sicília (1 planta), RO - Roxa Romana (1 planta), e RE - Roxa redonda (2 plantas).

O ensaio foi conduzido em Passo Fundo, região do Planalto Médio do Rio Grande do Sul a 687 metros de altitude. O clima da região se caracteriza por ser fundamental úmido e variedade subtropical (KUINCHTNER & BURIAL, 2001).

As plantas pré-selecionadas da coleção foram clonadas, ou seja, brotos axilares de cada planta foram coletados ao final da colheita (Janeiro de 2010) e considerados repetições de cada planta matriz submetida à avaliação. Primeiramente, as brotações foram estabelecidas em recipientes, tipo floreiras contendo 3 kg de substrato comercial composto por casca de *Pinus*, vermiculita, corretivo para acidez e fertilizantes minerais com as seguintes propriedades físicas: porosidade total (0.832), espaço de aeração (0.285), água facilmente disponível (0.151) e água tamponante (0.008).

Nessa etapa os brotos foram mantidos em casa de vegetação, onde permaneceram até o momento do plantio no campo. Durante esse período receberam irrigação, tratamento fitossanitário (inseticida e fungicida) a cada 15 dias e adubação com solução

nutritiva com a seguinte composição:  $\text{KNO}_3$  5 ml/L,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  5 ml/L,  $\text{MgSO}_4$  2 ml/L,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 ml/L,  $\text{MgSO}_4$  2 ml/L,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  4 ml/L, Fe-EDTA 1 ml/L, micronutrientes 1 ml/L, Fe-EDTA 5 ml/L, vitaminas FUJI 2 ml/L, sendo aplicado 30 ml de solução por recipiente a cada 20 dias para garantir o bom desenvolvimento das raízes e da planta.

As brotações foram estabelecidas no campo em abril de 2010, em delineamento experimental completamente casualizado, com quatro a seis repetições (brotações) por planta matriz. Para tal o solo foi preparado mediante subsolagem e calagem com aplicação de calcário (3,2t/ha) e adubado com NPK sendo: N (180 kg/ha), P (80 kg/ha) e K (90 kg/ha). O plantio ocorreu em linhas espaçadas de 1m e com espaçamento de 60 cm entre plantas na linha. No campo as brotações foram submetidas aos seguintes tratos culturais: irrigação, controle sanitário pela aplicação de fungicida e inseticida, além de capina para o controle de plantas daninhas.

As avaliações foram realizadas quando o capítulo primário atingiu o estágio comercial, denominado “Estádio 4” (BAGGIO et al., 2009) quanto aos seguintes características quantitativas: comprimento, largura e espessura da base das brácteas, comprimento, diâmetro e massa fresca do capítulo primário, diâmetro, espessura e massa fresca do fundo, duração da colheita, período de implantação a colheita, número de capítulos secundários (capítulos acima de 100 g), altura, diâmetro e massa fresca dos capítulos secundários, total de capítulos por planta ao final da colheita e rendimento por planta (número total de capítulos x massa fresca de capítulos). Para os caracteres qualitativos realizou-se as seguintes avaliações: (1) forma do capítulo primário: circular, elíptico, oval, triangular e elíptico largo transversos;

(2) coloração externa das brácteas: verde, verde rajado de violeta, violeta rajado de verde, principalmente violeta e completamente violeta e (3) presença ou ausência de espinhos nas brácteas externas.

Os dados quantitativos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Para verificar a relação entre os caracteres quantitativos foi realizada também a análise de correlação de Pearson. Para as características qualitativas foi realizada análise visual para caracterização da plantas quanto a esses parâmetros.

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÕES**

A análise de variabilidade entre cultivares, populações ou plantas pode ser realizada mediante a comparação das médias dos caracteres analisados através da análise de variância (ASPRELLI, 2000). No presente estudo houve diferenças significativas ( $p < 0.05$ ) entre as 39 plantas estudadas para nove das 17 características avaliadas, ou seja, comprimento e largura da base das brácteas, duração da colheita, número, altura, diâmetro e massa fresca dos capítulos secundários, total de capítulos por planta e rendimento (Tabela 1).

As variações que foram observadas entre plantas para os caracteres citados acima podem ser devido às diferenças genéticas já que essas são na maioria originadas de propagação sexual, portanto cada planta constitui um genótipo diferente, ou ainda, devido diferenças ambiental e ocasionalmente pela interação genótipo ambiente. Porém, ao considerar as diferenças entre as repetições (clones) de uma mesma planta matriz, a variabilidade existente seria

somente devida à efeitos ambientais, pois esses possuem a mesma constituição genética.

Os coeficientes de variação (CVs) expressos variaram de 6.20 para o caráter dias de implantação á colheita a 40.65 para massa fresca do fundo (Tabela 1). Os maiores CVs foram constatados em características que sofrem maior influência do ambiente como: massa fresca do fundo, espessura da base das brácteas, número de capítulos secundários, rendimento e total de capítulos por planta. Fato esperado já que estes caracteres são governados por muitos genes de efeito aditivo, apresentam distribuição contínua de fenótipos e baixa herdabilidade (BORÉM & MIRANDA, 2009).

Tabela 1 - Análise de variância de 17 características quantitativas avaliadas em 39 plantas de alcachofra, Passo Fundo, 2014

Variáveis	GL	SQ	QM	CV%	F teste
CBB	38	1,1215	0,031	1,42	0,0009*
LBB	38	2598,97	68,39	16,41	0,0000*
EBB	38	169,31	4,45	37,73	0,1592ns
CCP	38	46,62	1,22	11,29	0,048ns
DCP	38	49,13	1,030	13,12	0,333ns
MFC	38	42246,50	1243,42	25,78	0,647ns
DF	38	2821,56	74,25	15,50	0,142ns
EF	38	246,10	6,47	24,94	0,198ns
MFF	38	5430,60	142,91	40,65	0,250ns
DC	38	363,69	9,57	12,27	0,0000*
DIC	38	9982,95	262,70	6,20	0,041ns
NCS	38	37,053	0,975	32,66	0,0073*
AM	38	31,494	0,85	9,60	0,021*
DM	38	41,143	1,082	10,26	0,005*
MFS	38	42532,10	1119,26	18,45	0,0002*
ST	38	409,08	10,78	26,68	0,000*
RE	38	17395,26	4577,00	32,72	0,001*

Análise de variância ( $p < 0.05^*$ ) comprimento da base das brácteas (CBB), largura da base das brácteas (LBB), espessura da base das brácteas (EBB), comprimento do capítulo primário (CCP), diâmetro do capítulo primário (DCP), massa fresca do capítulo primário (MFC), diâmetro do fundo (DF), espessura do fundo (EF), massa fresca do fundo (MFF), duração da colheita (DC), período de implantação à colheita (DIC), número de capítulos secundários (NCS), altura média dos capítulos



secundários (AM), diâmetro médio dos capítulos secundários (DM), massa fresca média dos capítulos secundários (MFS), total de capítulos por planta ao final da colheita (ST) e rendimento (RE).

Asprelli (2000) também encontrou variação significativa para massa fresca, altura, diâmetro e número de capítulos secundários e rendimento, porém os coeficientes de variação foram menores que os encontrados neste trabalho. O autor também observou maior variação para massa fresca dos capítulos secundários em relação ao primário. Já entre as plantas avaliadas neste estudo, não houve variação significativa para massa fresca e comprimento do capítulo primário, nem para espessura e massa fresca de fundo. Isto pode ser porque essas plantas são originadas de uma pré-seleção baseada apenas no aspecto do capítulo primário.

Vale enfatizar que para o caráter dias de implantação da colheita também não houve diferença entre tratamentos, já que, a maioria das plantas avaliadas são classificadas como do tipo varietal “Romanesco”, portanto, materiais tardios.

A existência de variabilidade entre as plantas analisadas permite um melhor aproveitamento desses genótipos e a possibilidade de identificação de indivíduos superiores para os caracteres de interesse seletivo (COINTRY et al., 1999; CRAVERO et al., 2004).

As partes comestíveis da alcachofra são a base das brácteas, o fundo (receptáculo floral) e as brácteas internas (coração) (Figura 3), portanto a avaliação desses caracteres é importante, pois podem ser usados como parâmetros de qualidade de capítulo para consumo *in natura* (REOLON-COSTA et al., 2012).

Os indivíduos VRM 16 e VRM 76 apresentaram maior comprimento da base das brácteas que as plantas RM 6, RM 2, VR 15, VR 19 e VRM 58 não diferindo significativamente das demais (Figura 1).

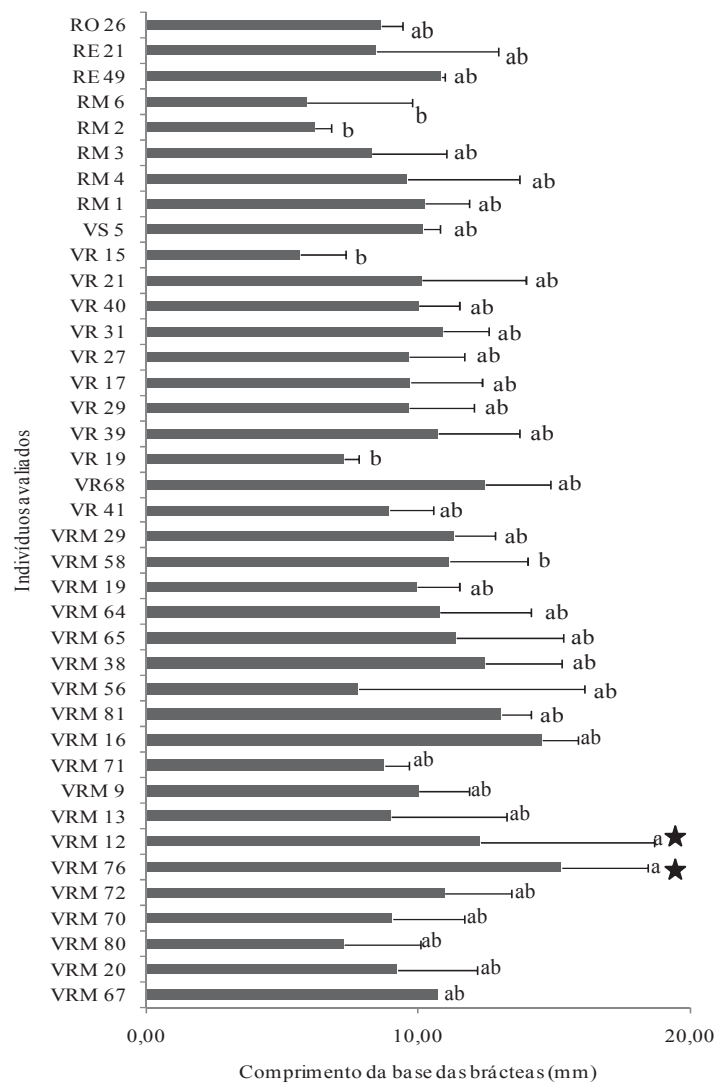


Figura 1 - Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro para o caráter comprimento da base das brácteas, entre 39 plantas de alcachofra.

Letras comparam as médias entre tratamentos. Passo Fundo – 2014.

Já, para largura da base das brácteas, as plantas VR 40 e VR 31 foram superiores à 20 dos indivíduos avaliados (Figura 2) não demonstrando diferença significativa apenas das plantas VRM 67, VRM 70, VRM 72, VRM 76, VRM 13, VRM 9, VRM 16, VRM 38, VRM 65, VRM 64, VRM 58, VRM 29, VR 39, VR 29, VS 5, RM 1 e RE 21. Os desvios para esse caráter variaram de 0.52 a 12.22. Mostrando que há variação também entre repetições (clones), esta variabilidade é de origem ambiental e não genotípica, pois esses são geneticamente idênticos entre si.

Os indivíduos dessas duas variedades VR e VRM que apresentaram maiores valores para os caracteres CBB e LBB, foram selecionados da coleção de germoplasma por apresentarem características desejáveis ao consumo *in natura*. Vale lembrar também que estas plantas matrizes são originadas de propagação sexual, o que justifica a variação encontrada entre plantas de uma mesma variedade comercial para essas características. A existência de variação entre populações de variedades comerciais propagadas por sementes foi estudada por Reolon-Costa et al (2013) no prelo.

A duração de colheita está relacionada com o tempo em que a planta se mantém produtiva e compreende o período entre a colheita do capítulo primário e a do último secundário com características aceitáveis de mercado, se considera, neste caso capítulos com massa fresca maior que 100 gramas. Esse caráter influencia na produtividade total da planta e dependente das condições ambientais e do vigor vegetativo da mesma.

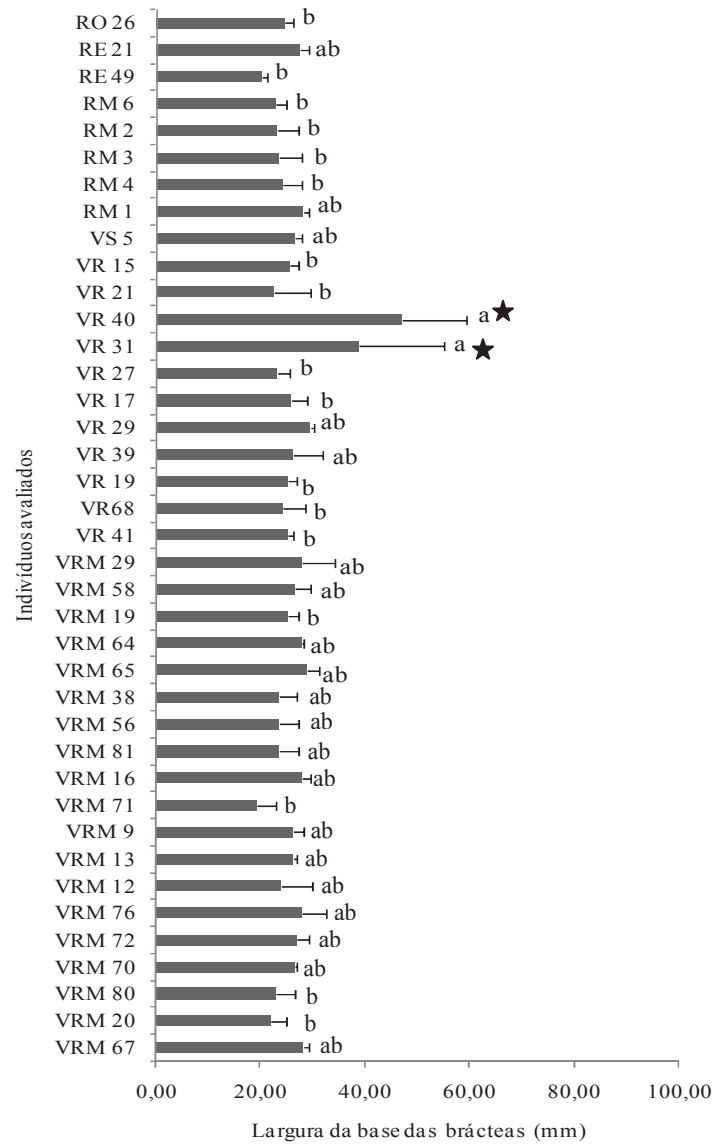


Figura 2 - Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro para o caráter largura da base das brácteas entre 39 plantas de alcachofra. Letras comparam as médias entre tratamentos, Passo Fundo - 2014.

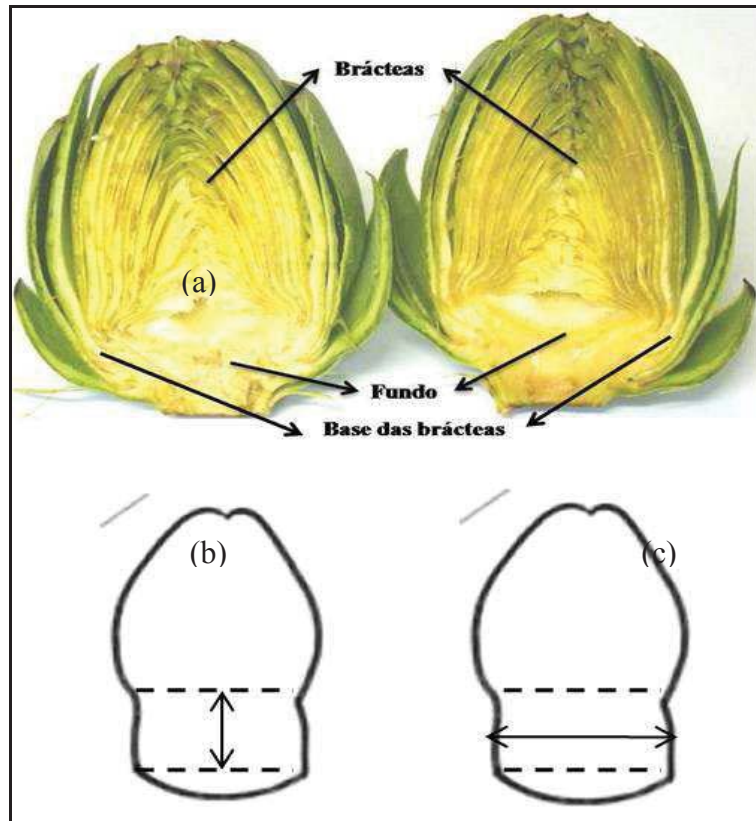


Figura 3- Representação esquemática das partes comestíveis da alcachofra, (a); medida do comprimento (b) e largura (c) da base das brácteas Passo Fundo - 2014.

O indivíduo VRM 64 apresentou maior duração do período de colheita (Figura 4) que as plantas RO 26, RM 4, VR 19, VRM 29, VMR 65 não diferindo significativamente das demais. A amplitude de variação para este caráter foi de 9 a 16 dias.

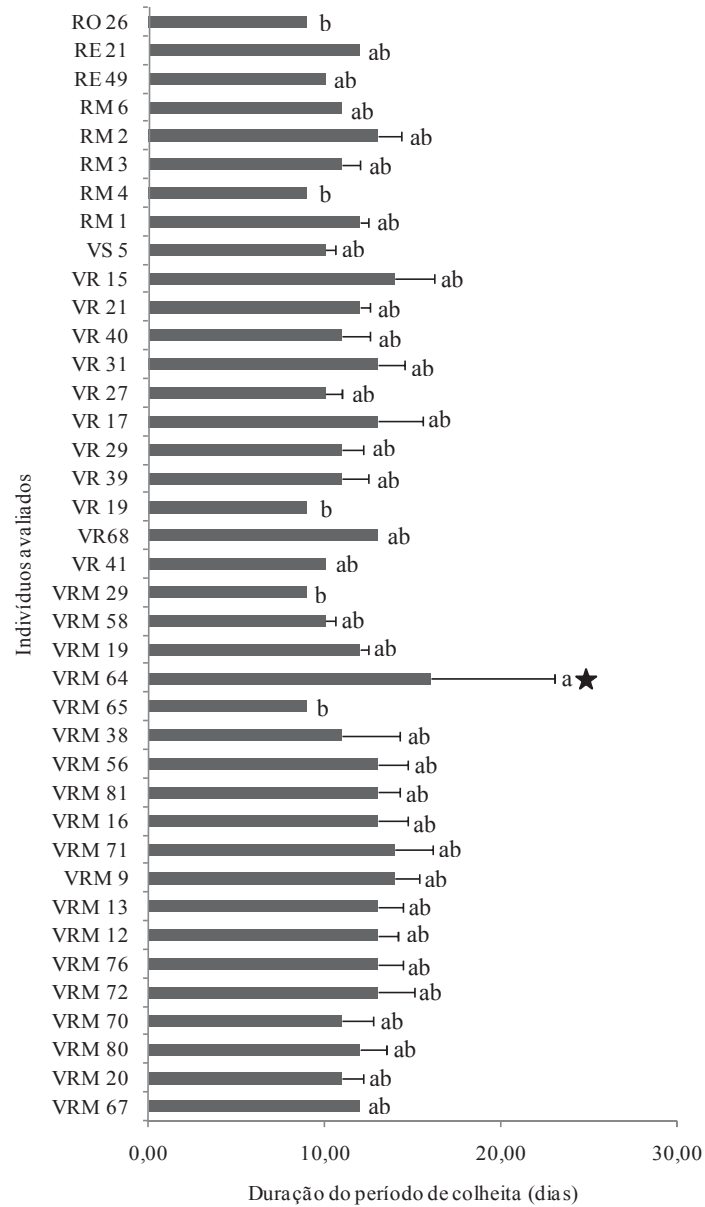


Figura 4 - Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro para o caráter duração da colheita, entre 39 plantas de alcachofra. Letras comparam as médias entre tratamentos, Passo Fundo - 2014.

Maiores valores médios para altura (Figura 5) dos capítulos secundários foi observado na planta VRM 38 a qual diferiu significativamente dos indivíduos VRM 71 e VRM 13. Já para diâmetro dos capítulos secundários as plantas RO 26 e VR 9 foram melhores que a VRM 72, porém não diferiram significativamente das demais plantas avaliadas.

Segundo Asprelli (2000), a relação entre estes dois caracteres determina o formato dos capítulos ( $R = A/D$ ).

Entre as características relacionadas à produtividade se destaca a massa fresca dos capítulos primário e secundários. Neste estudo a planta VR 39 demonstrou maior valor médio para massa fresca dos capítulos secundários (Figura 7) comparada às plantas: RM 4, VR 29, VRM 58, VRM 19, VRM 16 e VRM 72.

Pode-se observar também uma grande amplitude de variação para esse caráter de 0,82 g a 163,2 g o que indica a possibilidade de seleção para essa característica. A produção de capítulos com maior massa fresca é importante tanto para consumo *in natura*, como para a produção de corações e fundos para a indústria de conservas (TESI, 1976). Segundo Mauro et al. (2011) esse caráter é significativamente afetado pela densidade de plantas, onde altas densidades diminuem a massa fresca de capítulos primários e secundários. Esse fato se deve a competição por água, luz e nutrientes estabelecida entre plantas.

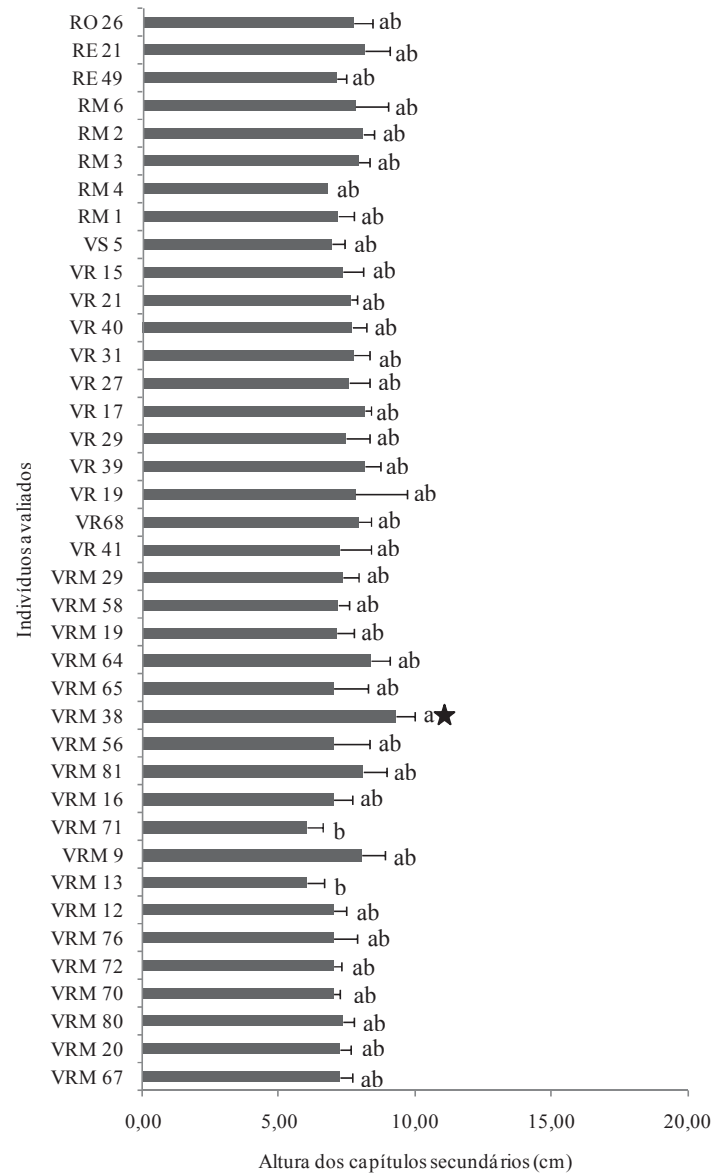


Figura 5 - Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro para o caráter altura dos capítulos secundários, entre 39 plantas de alcachofra. Letras comparam as médias entre tratamentos, Passo Fundo - 2014.



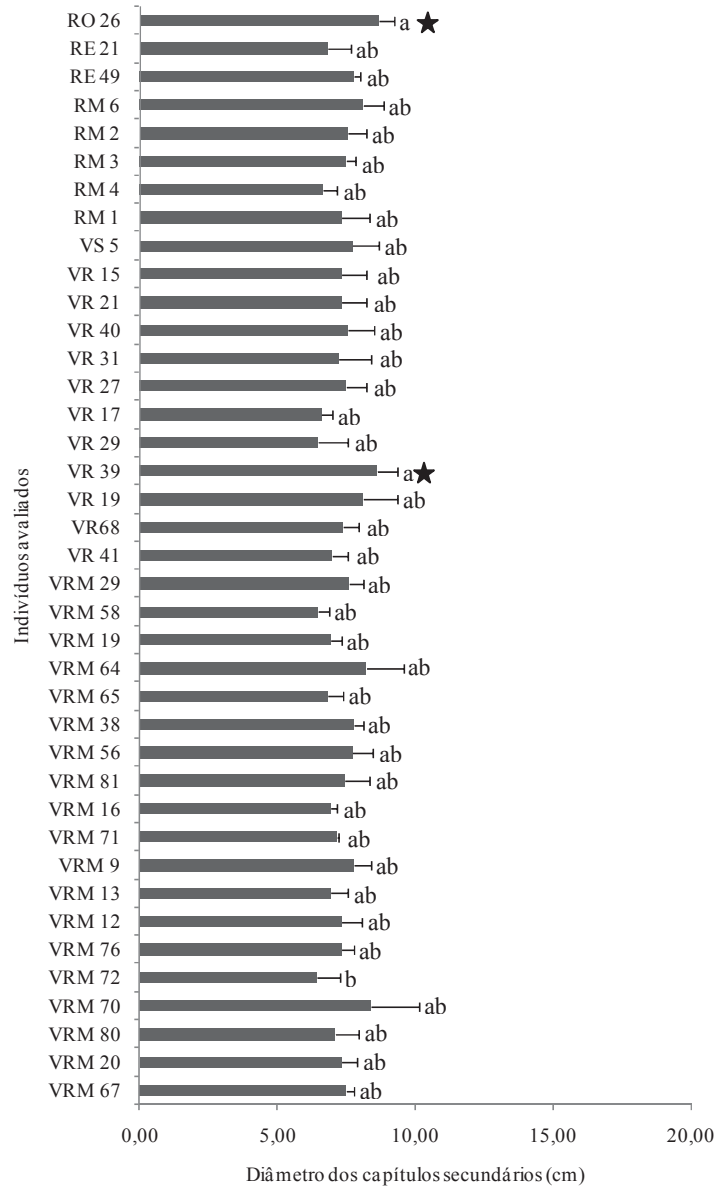


Figura 6 - Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro para o caráter diâmetro dos capítulos secundários, entre 39 plantas de alcachofra. Letras comparam as médias entre tratamentos, Passo Fundo - 2014.

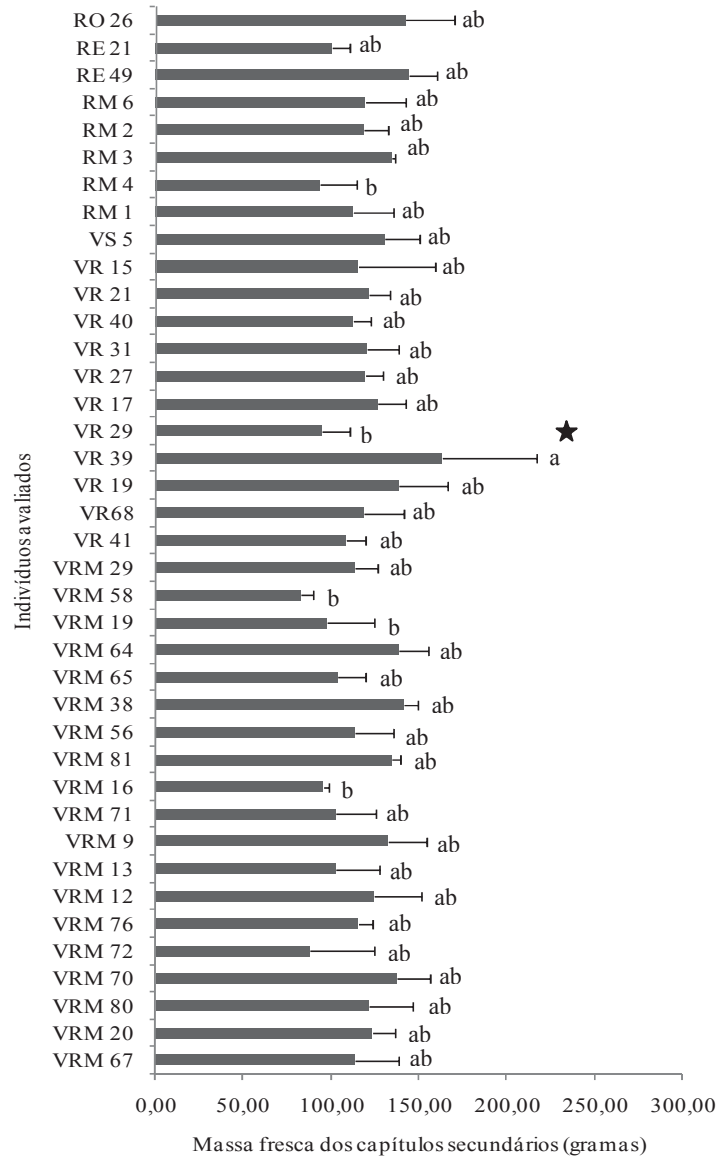


Figura 7 - Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro para o caráter massa fresca dos capítulos secundários, entre 39 plantas de alcachofra. Letras comparam as médias entre tratamentos, Passo Fundo - 2014.

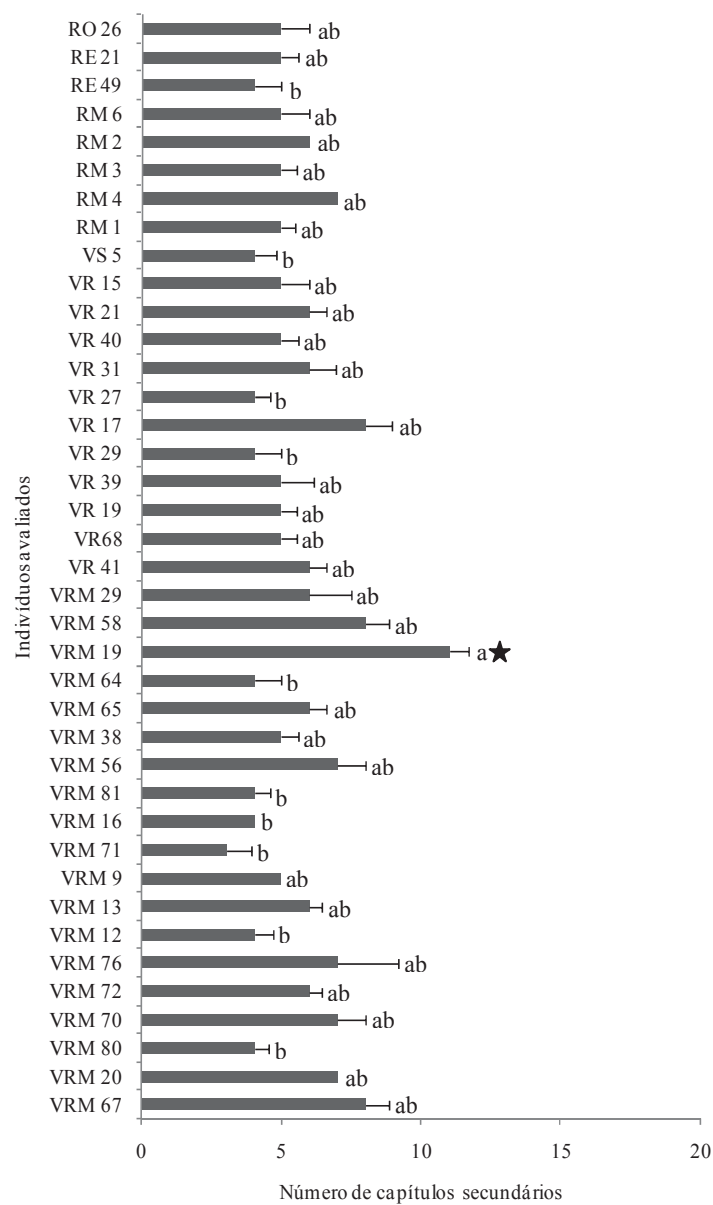


Figura 8 - Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro para o caráter número de capítulos secundário entre 39 plantas de alcachofra. Letras comparam as médias entre tratamentos, Passo Fundo - 2014.

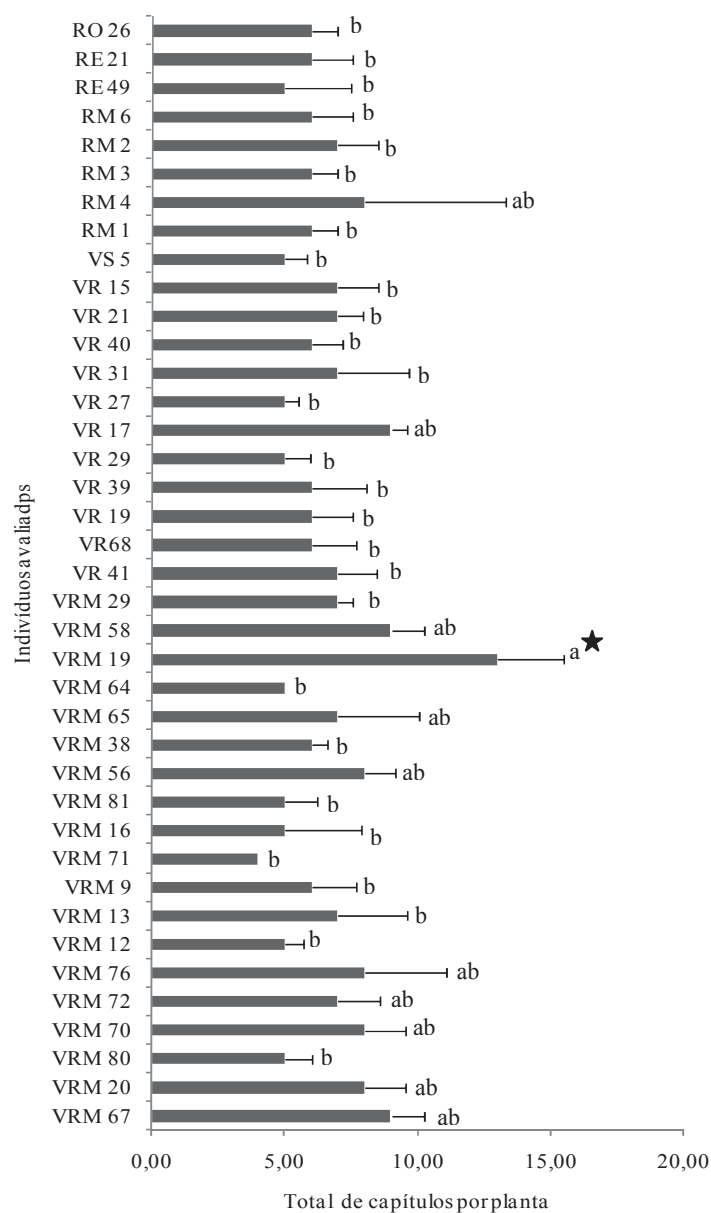


Figura 9 - Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro para o caráter total de capítulos por planta, entre 39 plantas de alcachofra. Letras comparam as médias entre tratamentos, Passo Fundo - 2014.

Para número de capítulos secundários a planta VRM 19 foi superior aos indivíduos a dez dos indivíduos avaliados (Figura 8). Capítulos secundários, neste trabalho, foram considerados, todos aqueles com mais de 100 gramas.

Esta planta VRM 19 também demonstrou ser superior a maioria das plantas avaliadas para a característica total de capítulos por planta (Figura 9). O número de capítulos por planta é um caráter varietal (FOTI & MAUROMICALE, 1994; MICCOLIS et al. 1999) e conforme Cravero (2001) representa o principal componente do rendimento em alcachofra.

O rendimento por planta apresentou maior média nos indivíduos VRM 19 e VRM 70 os quais, foram superiores as plantas RM 4 e VRM 71 (Figura 10).

A amplitude de variação encontrada para rendimento (719,21 a 220,73 g) se deve ao fato desse ser um caráter governado por muitos genes de efeito menor, baixa herdabilidade e que sofre influência dos efeitos ambientais (BORÉM & MIRANDA, 2009).

Nota-se que a planta VRM 19 se destacou por apresentar maior número de capítulos secundários e capítulos por planta e maior rendimento, assim estes resultados concordam as afirmações de Dellacecca et al (1976), Bagget et al (1982) e Cravero (2001) de que o rendimento é influenciado, principalmente pelo número de capítulos e não tanto pela massa fresca dos mesmos. Esses resultados sugerem ainda a existência de correlação entre esses caracteres e marcam a

necessidade de responder a dois questionamentos: Há correlação entre esses caracteres? Qual é o grau de correlação entre esses?

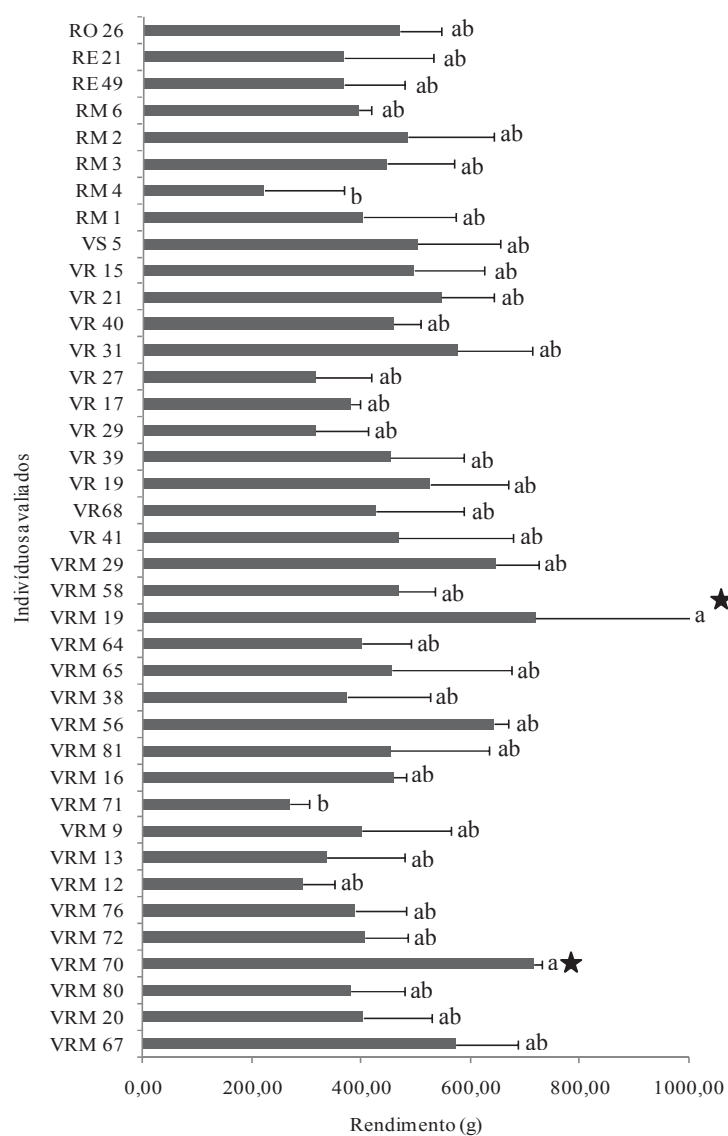


Figura 10 - Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro para o caráter rendimento, entre 39 plantas de alcaçofra. Letras comparam as médias entre tratamentos, Passo Fundo - 2014.

Neste contexto, a correlação de Pearson permite medir a relação de uma variável com outras (FALCONER & MACKEY, 1996) e fornece ainda uma estimativa da influência conjunta de causas genéticas e ambientais na expressão de uma dada característica (FERREIRA et al., 2003).

Os valores significativos de correlação de Pearson entre os caracteres avaliados na população estudada são mostrados na Tabela 2. A característica comprimento da base das brácteas apresentou correlação positiva com espessura da base das brácteas e massa fresca do fundo e correlação negativa com período de duração da colheita. Correlação significativa positiva também foi observada entre espessura e diâmetro do fundo.

Por sua vez, a massa fresca do fundo é significativamente correlacionada com o diâmetro e espessura do fundo, comprimento e diâmetro do capítulo primário, espessura e comprimento da base das brácteas (Tabela 2). Essas características, como dito anteriormente, estão associadas às partes comestíveis dos capítulos (fundo e base das brácteas) estando todas relacionadas com os parâmetros de qualidade exigidos pelo mercado *in natura*, de maneira que, devem ser levadas em consideração em programas de seleção visando à obtenção de genótipos melhorados para este fim.

Com base nestes resultados pode-se inferir que, ao selecionar capítulos com maior diâmetro, indiretamente capítulos com maior massa fresca, diâmetro e espessura de fundo também estão sendo selecionados, eliminando a necessidade de avaliações

específicas quanto a esses caracteres, resultando em maior eficácia e rapidez no processo seletivo.

Entre os caracteres produtivos, a massa fresca do capítulo primário mostrou correlação significativa positiva com a massa fresca do fundo e também com altura média dos capítulos secundários e duração do período de colheita (Tabela 2).

Tabela 2 - Valores significativos de correlação de Pearson entre os caracteres avaliados entre plantas de alcachofra pertencentes a diferentes cultivares, Passo Fundo - 2013

Variáveis	Correlação	Probabilidade
CBB x EBB	0,67	0,0006***
CBB x MFF	0,57	0,0158**
CBB x DC	- 0,36	1,957*
LBB x EBB	0,38	1,368*
LBB x CCP	0,44	0,4332**
LBB x DIC	- 0,44	0,4321**
EBB x MFF	0,42	0,6329**
EBB x DIC	- 0,51	0,0827**
EF x MFC	0,91	0,0011***
EF x DIC	- 0,52	0,0717**
EF x DF	0,44	0,4914*
MFC x DC	0,48	0,1767*
MCF x AM	0,34	3,1606*
CCP x MFF	0,34	2,7621*
CCP x DIC	0,46	0,2639**
DCP x MFF	0,36	2,0237*
DCP x DIC	0,32	4,316*
DF x MFF	0,33	3,6936*
DIC x MFS	0,36	2,2828*
DIC x DM	0,33	3,5013*
NCS x MFS	- 0,55	0,0266**
NCS x AM	- 0,32	3,8664*
NCS x DM	- 0,39	1,1417*
NCS x ST	0,81	0,0039**
MFS x AM	0,71	0,0045**
MFS x DM	0,78	0,000***
MFS x ST	- 0,31	4,9688*
AM x DM	0,40	1,1135*
ST x RE	0,99	0,0000***

Significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste t, comprimento da base das brácteas (CBB), largura da base das brácteas (LBB), espessura da base das



brácteas (EBB), comprimento dos capítulos primário (CCP), diâmetro do capítulo primário (DCP), massa fresca do capítulo primário (MFC), diâmetro do fundo (DF), espessura do fundo (EF), massa fresca do fundo (MFF), duração da colheita (DC), período de implantação à colheita (DIC), número de capítulos secundários (NCS), altura média dos capítulos secundários (AM), diâmetro médio dos capítulos secundários (DM), massa fresca média dos capítulos secundários (MFS), total de capítulos por planta ao final da colheita (ST) e rendimento (RE).

Outro caráter produtivo relevante e de grande impacto, principalmente sobre o rendimento de mercado é a soma total de capítulos por planta, o qual apresentou correlação positiva significativa com rendimento e correlação negativa significativa com massa fresca dos capítulos secundários (Tabela 2). Assim, quanto maior o número de capítulos por planta menor a massa fresca individual desse. Isso decorre do fato de haver mais drenos competindo por fotoassimilados na planta. Sobre este aspecto Crippa et al. (2011) também observaram que plantas com maior número de capítulos resultam em materiais de maior rendimento final.

A soma total de capítulos por planta também demonstrou correlação positiva com número de capítulos secundários, enquanto que o número de capítulos secundários apresentou correlação negativa significativa com: massa fresca, altura e diâmetro dos capítulos secundários, mostrando novamente a relação inversa existente entre massa fresca e tamanho, com número de capítulos (Tabela 2). Esses resultados respondem aos questionamentos iniciais e confirma a existência de correlação entre número de capítulos secundários, número de capítulos por planta com rendimento.

Estudos de correlação associados aos caracteres de interesse seletivo em alcachofra foram também realizados por outros autores. López Anido et al. (1998) avaliaram uma população de clones

na Argentina e determinaram que os caracteres associados com o rendimento foram: número de capítulos ao final da colheita, massa fresca de capítulos primários e secundários e massa fresca do fundo. Asprelli et al. (2001) também encontraram alta correlação dos caracteres acima com rendimento. Isso indica que essas características são as de maior importância na seleção de genótipos mais produtivos, através da utilização da seleção indireta. Isso é possível porque quando há correlação significativa entre dois caracteres pode-se obter ganho genético de um deles por meio da seleção indireta de outro.

Outros valores de correlação significativos encontrados foram entre: altura dos capítulos secundários com diâmetro e massa fresca dos capítulos secundários (Tabela 2). A característica fenológica período de implantação à colheita obteve correlação positiva significativa com: massa fresca e altura dos capítulos secundários, diâmetro e comprimento do capítulo principal e ainda correlação negativa significativa com espessura do fundo e largura da base das brácteas.

A alta correlação existente entre os caracteres de produtividade e de qualidade permite uma seleção mais eficiente de plantas em programas de melhoramento de alcachofra.

Dado que o melhoramento genético dessa cultura deve responder às exigências do mercado consumidor, a seleção deve aplicar-se não somente sobre caracteres quantitativos como os referidos acima, mas também sobre características qualitativas do capítulo (MAUROMICALE & COPANE, 1989). Portanto, caracteres como coloração, formato e ausência de espinhos nas brácteas externas possuem grande importância.

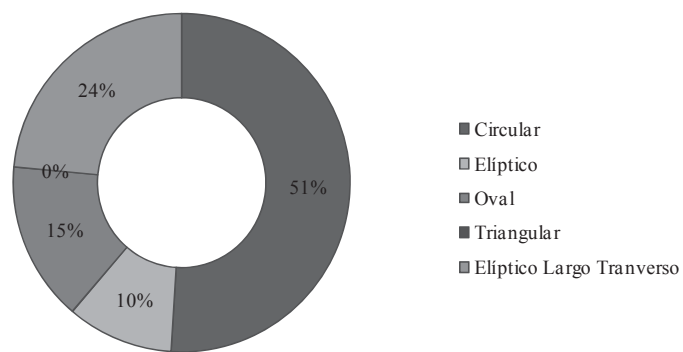
Assim, também foi observada variação para esses caracteres, entre as plantas avaliadas, sendo possível selecionar indivíduos que possuam caracteres desejáveis ao mercado *in natura* como: formato circular, coloração violeta e sem espinhos nas brácteas externas.

Para o caráter formato de capítulo primário foi observado que as plantas: VRM 67, VRM 20, VRM 80, VRM 76, VRM 12, VRM 13, VRM 9, VRM 71, VRM 65, VRM 64, VRM 19, VRM 58, VRM 29, VR 61, VR 48, RM 1, RM 4, RM 3, RM 2 apresentaram capítulos circulares (Tabela 3) o que corresponde a 51% dos indivíduos avaliados (Figura 11a). Os demais apresentaram capítulos com formato elíptico, oval e elíptico largo transversal, não sendo observado o formato triangular.

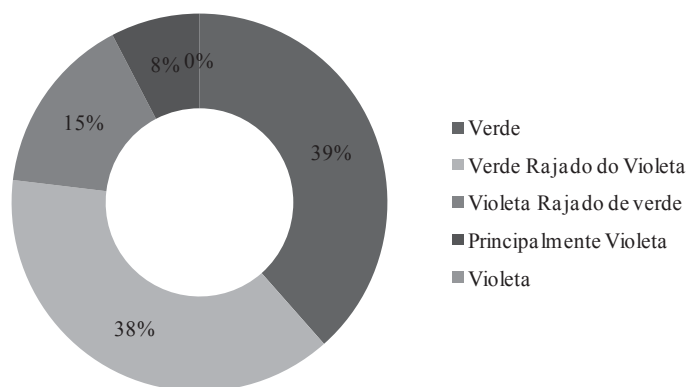
Tabela 3 - Descrição das 39 plantas avaliadas quando aos três principais caracteres de qualidade de capítulo para consumo *in natura*, Passo Fundo - 2014

<b>Genótipos</b>	<b>Formato</b>	<b>Coloração</b>	<b>Espinhos</b>
<b>VRM67</b>	Circular	Verde	Presença
<b>VRM20</b>	Circular	Verde	Ausência
<b>VRM80</b>	Circular	Verde	Presença
<b>VRM70</b>	Elíptico largo transverso	Verde	Ausência
<b>VRN72</b>	Elíptico largo transverso	Verde	Ausência
<b>VRM76</b>	Circular	Verde rajado de violeta	Presença
<b>VRM12★</b>	Circular	Verde rajado de violeta	Ausência
<b>VRM13★</b>	Circular	Verde rajado de violeta	Ausência
<b>VRM9 ★</b>	Circular	Verde rajado de violeta	Ausência
<b>VRM71★</b>	Circular	Verde rajado de violeta	Ausência
<b>VRM16</b>	Elíptico largo transverso	Verde rajado de violeta	Presença
<b>VRM81</b>	Elíptico largo transverso	Verde rajado de violeta	Ausência
<b>VRM76</b>	Elíptico	Verde rajado de violeta	Presença
<b>VRM38</b>	Elíptico largo transverso	Verde rajado de violeta	Presença
<b>VRM65</b>	Circular	Verde	Ausência
<b>VRM64</b>	Circular	Verde	Ausência
<b>VRM19</b>	Circular	Verde	Ausência
<b>VRM58</b>	Circular	Verde	Ausência
<b>VRM29</b>	Circular	Verde	Presença
<b>VR41★</b>	Circular	Verde rajado de violeta	Ausência
<b>VR68</b>	Circular	Verde rajado de violeta	Presença
<b>VR19</b>	Elíptico largo transverso	Verde rajado de violeta	Presença
<b>VR39</b>	Elíptico largo transverso	Verde	Presença
<b>VR29</b>	Elíptico largo transverso	Verde	Presença
<b>VR17</b>	Elíptico largo transverso	Verde	Presença
<b>VR27</b>	Elíptico	Verde	Presença
<b>VR31</b>	Elíptico	Verde rajado de violeta	Presença
<b>VR40</b>	Elíptico	Verde rajado de violeta	Presença
<b>VR21</b>	Oval	Verde rajado de violeta	Presença
<b>VR15</b>	Oval	Verde rajado de violeta	Presença
<b>VS 5</b>	Oval	Violeta rajado de verde	Presença
<b>RM1★</b>	Circular	Violeta rajado de verde	Ausência
<b>RM4★</b>	Circular	Violeta rajado de verde	Ausência
<b>RM3★</b>	Circular	Violeta rajado de verde	Ausência
<b>RM2</b>	Circular	Violeta rajado de verde	Presença
<b>RM6★</b>	Circular	Violeta rajado de verde	Ausência
<b>RE49</b>	Oval	Principalmente violeta	Presença
<b>RE21</b>	Oval	Principalmente violeta	Presença
<b>RO26</b>	Oval	Principalmente violeta	Presença

Esse caráter é de extrema importância para os programas de melhoramento genético de alcachofra, pois possui uma estreita relação com a compacidade do capítulo, outra característica importante. Segundo Dellacecca & Marzi (1976) capítulos mais compactos apresentam forma circular já que possuem mais brácteas na face interna.



(a)



(b)

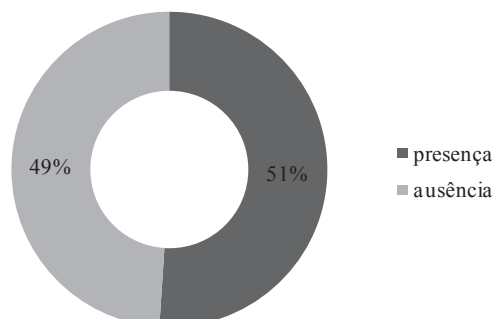


Figura 11 - Frequências relativas para cada classe dos caracteres: formato (a) e coloração do capítulo primário (b) e presença/ausência de espinhos (c) nas 39 plantas avaliadas, Passo Fundo – 2014.

Ainda, segundo Foury (1967), as cultivares com capítulos cômicos possuem menor número de brácteas, o que faz com que os capítulos não suportem as manipulações pós-colheita e se deformem. Portanto, as plantas citadas acima, com capítulos circulares, poderiam ser selecionadas como genitores para futuros cruzamentos visando à melhoria da qualidade do capítulo para consumo *in natura*.

O aspecto e a coloração são caracteres qualitativos de importância no momento de apreciar a qualidade da maioria dos vegetais utilizados em estado fresco. O consumidor de alcachofra, em particular, é muito sensível as colorações do capítulo, sendo este caráter um marcador de qualidade da cultura (AUBERT, 1976; COINTRY, 2001). Em países como França, Itália, Argentina e Brasil a preferência é por capítulo de coloração violeta.

Neste estudo, 39% (Figura 11b) das plantas apresentaram coloração de capítulos verde. As demais plantas se distribuíram entre as classes violeta rajado de verde e principalmente violeta (Tabela 3).

Estes resultados demonstram a existência de variabilidade para essa característica e a possibilidade de seleção de plantas com coloração de capítulo violeta. Essa variabilidade nos mostra ainda a necessidade do desenvolvimento de materiais com maior uniformidade para coloração de capítulo e que possuam a coloração requerida pelo mercado consumidor. De maneira que algumas destas plantas podem ser selecionadas como genitores para um programa de cruzamentos visando à incorporação de genes de coloração violeta.

Conhecer a ação gênica que rege a coloração de capítulo é de fundamental importância na produção de variedades ou híbridos com uma determinada cor. Segundo Cravero et al. (2005), a cor do capítulo é determinada por dois pares de alelos (P, p e U, u), existindo uma dominância completa em cada um dos locus e uma relação epistática recessiva entre esses. Essa informação permite o planejamento adequado de cruzamentos, para que se logre aumento de coloração violeta em menor tempo.

Outro caráter que deve ser levado em consideração no processo de seleção é a presença de espinhos nas brácteas externas, sendo este uma característica indesejável no mercado *in natura*, 51% das plantas avaliadas neste trabalho apresentaram espinhos (Figura 11c) e as plantas VRM 20, VRM 70, VRM 72, VRM 12, VRM 13, VRM 9, VRM 71, VRM 81, VRM 65, VRM 64, VRM 19, VRM 58, VR 41, VR 68, RM 1, RM 4, RM 3 e RM 6 não manifestaram espinhos nas brácteas externas (Tabela 3). O tipo de herança desse caráter foi estudado Pecaut & Foury (1992) segundo esses autores a ausência de espinhos está determinada por um gene dominante (Sp) enquanto que o tipo espinhoso é determinado pela forma recessiva

deste gene (sp), assim é muito difícil que se elimine completamente essa característica de uma população segregante, pois a mesma permanece mascarada no heterozigoto.

Os resultados deste trabalho mostram que os capítulos se diferenciam por tamanho, forma e coloração e evidenciam a existência de variabilidade para as características qualitativas e para nove dos caracteres quantitativos avaliados. O conhecimento dessa variabilidade e dos coeficientes de correlação entre caracteres quantitativos permitirá um melhor aproveitamento dos materiais existentes e a identificação de progenitores, que possam ser usados em cruzamentos visando à conformação de uma população segregante onde possam ser aplicados diferentes modelos seletivos.

Com base nas características quantitativas as plantas VRM 16, VR 40, VR 31, VR 15, VR 39, VRM 38, RO 9 e VRM 19 poderiam ser selecionadas por se destacarem para caracteres como: comprimento da base das brácteas, largura da base das brácteas, duração da colheita, massa fresca, altura e diâmetro dos capítulos secundários, número de capítulos secundários, total de capítulos por planta e rendimento. Porém, ao considerar os caracteres qualitativos as plantas VRM 12, VRM 13, VRM 9, VRM 71, VR 41, VR 68, RM 4, RM 3 e RM 6 se destacam por agruparem todas as características desejáveis relacionadas ao consumo *in natura*, ou seja, formato circular, coloração violeta e ausência de espinhos.

A seleção de progenitores para o melhoramento genético é orientada pela demanda de mercado e objetivos do programa. Portanto, tendo em vista a falta de uniformidade das variedades brasileiras para os caracteres relacionados à qualidade de capítulo e



que o objetivo principal do programa de melhoramento iniciado na Universidade de Passo Fundo é melhorar a qualidade do mesmo, as nove plantas superiores em relação os caracteres qualitativos podem ser selecionadas para ser incluídas em blocos de cruzamentos, visando melhorias em curto prazo. As dez que se destacaram quanto aos caracteres quantitativos, podem ser mantidas na coleção e incorporadas em futuros cruzamentos dependendo das necessidades do programa.

#### 4 CONCLUSÕES

- a) Há variabilidade entre as 39 plantas avaliadas para nove dos caracteres quantitativos e qualitativos de interesse seletivo;
- b) Dez plantas podem ser selecionadas, por apresentar maiores valores para: massa fresca do fundo com diâmetro e espessura do fundo, massa fresca do capítulo primário com massa fresca do fundo, altura média dos capítulos secundários e duração do período de colheita, rendimento com número de capítulos secundários e total de capítulos por planta;
- c) É possível selecionar nove plantas com caracteres qualitativos desejáveis ao consumo *in natura*, ou seja, plantas com formato circular, coloração violeta, sem espinhos nas brácteas externas;
- d) Há correlação entre os caracteres quantitativos avaliados, o que permite o uso destes índices como ferramenta para processos de seleção indireta;

## CAPÍTULO II

### SELEÇÃO RECORRENTE FENOTÍPICA NO MELHORAMENTO GENÉTICO DE ALCACHOFRA

ANGÉLICA REOLON DA COSTA<sup>1</sup>

**RESUMO** – A seleção recorrente fenotípica visa aumentar a frequência de alelos favoráveis ao longo de sucessivos ciclos de avaliação, seleção e recombinação, podendo resultar em uma variedade de polinização aberta. Portanto, o objetivo deste trabalho foi obter uma população de alcachofra melhorada para caracteres de qualidade de capítulo, bem como estimar os ganhos obtidos para caracteres quantitativos. Para tal, de uma população base (ciclo C0) com 147 plantas, foram selecionadas 12 por possuírem o ideotipo ideal para consumo *in natura* e posteriormente intercruzadas para formar o ciclo C1 de seleção recorrente fenotípica. Esse último foi constituído de 180 plantas, das quais selecionou-se e intercruzou-se 11 indivíduos para originar a população do ciclo C2, o qual foi formado por 324 indivíduos. Do ciclo C2, 11 indivíduos foram selecionados e recombinados constituindo a população do ciclo C3 de seleção recorrente fenotípica. As três populações foram avaliadas quanto a 12 características quantitativas e três qualitativas. Os dados quantitativos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, e estimativa do ganho genético em cada ciclo. Para os dados qualitativos foram avaliadas as frequência de plantas em cada classe.

---

<sup>1</sup>Bióloga, Mestre em Agronomia, Doutoranda em Agronomia, Programa de Pós Graduação em Agronomia – Universidade de Passo Fundo.

Quanto aos resultados obtidos houve um aumento total de 25,42% da frequência de capítulos de coloração violeta, chegando ao ciclo C2 com 87% de plantas com capítulos com traços de coloração violeta. Para formato de capítulos o aumento total na frequência de indivíduos com capítulos circulares foi de 34,7%, já para ausência de espinhos, o aumento final foi de 43,2% na porcentagem de plantas. Houve variação significativa entre ciclos para a maioria dos caracteres quantitativos avaliados, ou seja, dias de implatação à colheita, duração do período de colheita, comprimento e diâmetro do capítulo primário, número e diâmetro de capítulos secundários, espessura e diâmetro de fundo e rendimento. Quanto ao progresso genético final, as características comprimento e diâmetro do capítulo primário, número e diâmetro dos capítulos secundários, e espessura de fundo, apresentaram ganhos significativos. O processo de seleção recorrente fenotípica resultou em uma população de alcachofra melhorada para os caracteres de qualidade de capítulo e para algumas características quantitativas.

**Palavras chaves:** Consumo *in natura*, *Cynara cardunculus* L.var. *scolymus* (L.) Fiori, melhoramento genético, seleção de plantas.

## **PHENOTYPIC RECURRENT SELECTION IN ARTICHOKE BREEDING**

**ABSTRACT** - The phenotypic recurrent selection aims to increase the favourable allelic frequency during successive selection cycles, selection and recombination, which may result in a variety of open-

polinization. Therefore, the purpose of this work was to obtain an improved artichoke population for traits of head quality as well as estimate the gains for quantitative traits. For that, from a base population, with 147 plants, 12 were selected because they have the ideal traits for *in natura* consumption, and later were intercrossed to form the C0 cycle of phenotypic recurrent selection. The latter consisted of 180 plants from which 11 individuals were selected and intercrossed to originate the population from C1 cycle, which was composed of 324 individuals. From C1 cycle, 11 individuals were selected and recombined constituting the C2 cycle population of phenotypic recurrent selection. All of the populations were evaluated regarding 12 quantitative and three qualitative traits. Quantitative data were submitted to variance analysis (ANOVA) and means were compared by Tukey's test, 5% error probability and estimation of genetic gain in each cycle. For qualitative data the plants frequency in each class were evaluated. There was a total increase of 25,42% in the frequency of violet head, reaching the C1 cycle with 87% of plants presenting heads with traces of violet colour. For head shapes the total increase in the frequency of circular heads was 34,7%, whereas the absence of thorns the increase was of 43,2%. There was significant variation among the cycles for most of the quantitative traits, in other words, from implantation to harvest, harvest period, primary head length and diameter, secondary head number and diameter, bottom thickness and diameter and yield. About the final genetic progress, the primary head length and diameter, secondary head number and diameter and bottom thickness showed significant gains. The process

of phenotypic recurrent selection results in an improved artichoke population for heads quality traits and some quantitative traits.

**Key words:** *Cynara cardunculus* L.var. *scolymus* (L.) Fiori, genetic breeding, *in natura* consumption, plant selection.

## 1 INTRODUÇÃO

A alcachofra, *Cynara cardunculus* L.var. *scolymus* (L.) Fiori, é uma cultura de importância nutricional, medicinal e ornamental, com potencial de utilização na fabricação de papel e combustível sólido (CECCARELLI et al., 2010; CASADEVALL et al., 2011). As partes comestíveis são à base das brácteas, o receptáculo floral (fundo) e as brácteas internas (coração).

Quanto ao sistema reprodutivo caracteriza-se por ser alógama e pela coexistência de dois sistemas de propagação: sexual por sementes e assexual por brotações e gemas (COINTRY et al., 1999; CRAVERO et al., 2003) o que permite a aplicação de diferentes métodos de melhoramento baseados em distintos modelos seletivos (COINTRY et al., 1999). Nesse contexto, a polinização livre entre plantas possibilita a expressão da variabilidade genética intrínseca e conseqüentemente a seleção de genótipos superiores. Desta forma, a seleção e recombinação durante ciclos sucessivos permite o desenvolvimento de uma nova variedade de polinização aberta.

A possibilidade de gerar uma nova variedade de alcachofra, apta as condições edafoclimáticas do RS e com uniformidade e estabilidade exigida pelo mercado *in natura* para os parâmetros de qualidade de capítulo, dependerá dos caracteres

considerados de interesse seletivo e da metodologia de melhoramento utilizada.

A seleção aplicada sobre características determinadas por poucos genes como formato, cor de capítulo e espinhosidade das brácteas é muito mais efetiva do que a seleção para caracteres quantitativos poligênicos como rendimento. Quanto ao método de melhoramento, a seleção recorrente fenotípica, metodologia que consiste em repetir os mesmos procedimentos ciclo após ciclo de seleção (avaliação, seleção e recombinação) pode auxiliar a alcançar a uniformidade desejada, pois objetiva o aumento da frequência de alelos favoráveis para características de interesse (BORÉM & MIRANDA, 2009) resultando em uma população melhorada propagada por sementes.

O desenvolvimento de variedade de alcachofra propagada por sementes tem sido o foco atual do melhoramento da cultura, pois entre outras vantagens proporciona o uso mais eficiente da umidade do solo e nutrientes em comparação com a propagação vegetativa e maior proteção contra agentes patogênicos e parasitas (BASNIZKI & ZOARY, 2010).

Vale destacar que a pressão de seleção aplicada sobre caracteres qualitativos poderá, indiretamente, afetar as frequências dos alelos para caracteres quantitativos dentro das populações, resultando em modificações nas mesmas. Portanto, a eficiência do método pode ser avaliada pelo aumento em porcentagem das frequências de plantas com características qualitativas desejáveis ao consumo *in natura* e pela estimativa dos ganhos obtidos para caracteres quantitativos ao longo do processo seletivo (PINTO, 1995; BUENO et al., 2001).

O objetivo deste trabalho é obter uma população de alcachofra melhorada para os caracteres de qualidade de capítulo, bem como estimar os ganhos obtidos para os caracteres quantitativos ao longo do processo seletivo.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

Foram conduzidos três ciclos de seleção recorrente fenotípica C0 - 2010, C1 - 2011 e C2 - 2012. O experimento foi realizado no campo experimental da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, região do Planalto Médio do Rio Grande do Sul a 687 metros de altitude. O clima da região é fundamental úmido e variedade subtropical (KUINCHTNER & BURIAL, 2001).

A população base (ciclo C0) consistiu de 147 plantas das variedades Romanesca, Verde redonda, Verde Redonda Melhorada, Roxa Redonda, Roxa Romana e Violeta de Sicília, originadas da coleção de germoplasma da universidade. Dessa população foram selecionadas visualmente 12 plantas por possuírem o seguinte ideotipo: coloração violeta, formato circular e ausência de espinhos nas brácteas externas, ausência de curvatura nas brácteas e capítulos compactos. Esses indivíduos selecionados foram recombinados via polinização entomófila, com controle parental materno, para gerar a população do ciclo C1 de seleção recorrente fenotípica.

Parte das sementes obtidas pela recombinação acima foi colocada em recipientes herméticos e armazenada em câmara a 10 °C e 65% de umidade relativa. O restante foi semeado em bandejas alveoladas contendo substrato comercial composto por casca de *Pinus*,

vermiculita, corretivo para acidez e fertilizantes minerais com as seguintes propriedades físicas: porosidade total (0,832), espaço de aeração (0,285), água facilmente disponível (0,151) e água tamponante (0,008). As plantas foram mantidas em casa de vegetação até atingirem quatro folhas verdadeiras, momento de plantio no campo.

Em abril de 2011, foram transplantadas para campo 180 plantas de alcachofra (ciclo C1) em delineamento completamente casualizado e espaçamento 1 m entre linhas e 0,60 m entre plantas. O solo foi preparado mediante subsolagem e calagem com aplicação de calcário (3,2t/ha) e adubado com NPK sendo: N (180 kg/ha), P (80 kg/ha) e K (90 kg/ha). As plantas foram submetidas aos seguintes tratamentos culturais: irrigação, controle sanitário pela aplicação de fungicida e inseticida, além de capina para controle de plantas daninhas.

No campo a população do ciclo C1 foi avaliada quanto à 12 caracteres quantitativos e três qualitativos e 11 plantas com mesmo ideotipo descrito anteriormente foram selecionadas e posteriormente recombinadas originando a população do ciclo C2 de seleção recorrente fenotípica.

Novamente parte das sementes obtidas foram armazenadas em câmara fria e o restante semeado em bandejas alveoladas. Quando as plantas atingiram quatro folhas verdadeiras 324 plantas foram transferidas para o campo em abril de 2012 (ciclo C2). As metodologias de armazenamento, semeadura e plantio no campo foram as mesmas descritas acima. Da população do ciclo C2 foram selecionadas 11 plantas também com base na cor, formato,



espinhosidade e compacidade de capítulo. Esses indivíduos foram recombinados para formar a população do ciclo C3 de seleção recorrente fenotípica.

Todas as sementes obtidas nesse último cruzamento (ciclo C3) foram armazenadas juntamente com o remanescente dos demais ciclos para futuramente avaliar-se todos os ciclos em um mesmo ambiente, permitindo o cálculo do ganho genético real obtido.

As Figuras 1 e 2 mostram as variações mensais de temperatura e radiação PAR para os três anos de avaliação do experimento.

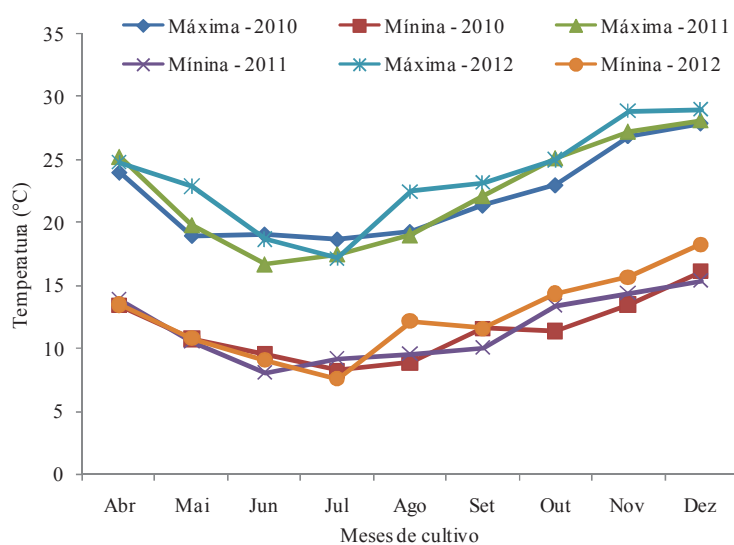


Figura 1 - Temperatura máxima e mínima média mensais durante os três anos de cultivo, Passo Fundo - 2014.

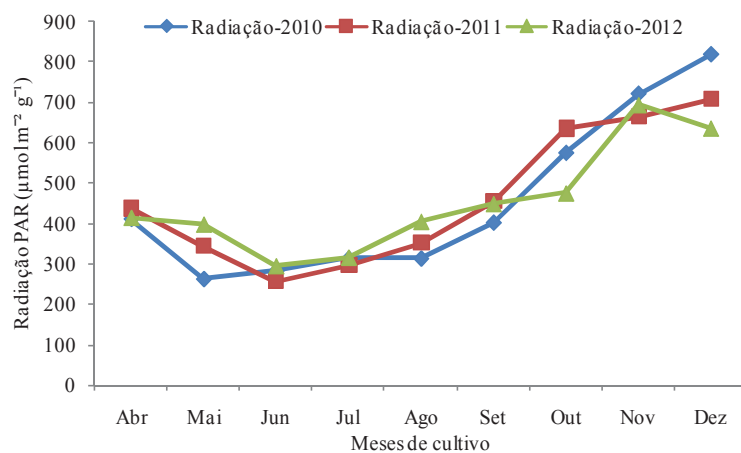


Figura 2 - Radiação PAR mensal nos três anos de cultivo, Passo Fundo - 2014.

Todas as avaliações quantitativas e qualitativas dos ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica foram realizadas quando o capítulo primário atingiu o estágio comercial quanto a 12 caracteres quantitativos (Quadro 1) e três qualitativos.

Os caracteres qualitativos avaliados foram: forma do capítulo primário: circular, elíptico, oval, triangular e elíptico largo transversal; (2) coloração externa das brácteas: verde, verde rajado de violeta, violeta rajado de verde, principalmente violeta e completamente violeta e (3) Presença ou ausência de espinhos nas brácteas externas (Figura 3).

Quadro 1 - Variáveis quantitativas analisadas nos ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica, Passo Fundo - 2014

<b>Variáveis</b>	<b>Descrição</b>	<b>Unidade</b>	<b>Sigla</b>
Dias de implantação à colheita	Período transcorrido desde a implantação no campo até a colheita	Dias	DIC
Duração da colheita	Período transcorrido desde a coleta do capítulo primário até o último secundário	Dias	DC
Diâmetro do capítulo primário	Medida de uma extremidade a outro do capítulo	(cm)	DP
Comprimento do capítulo primário	Medida da extremidade inferior até a extremidade superior do capítulo	(cm)	CP
Massa fresca dos capítulos secundários	Massa fresca do capítulo momento da colheita	(g)	MFS
Diâmetro dos capítulos secundários	Medida de uma extremidade a outro do capítulo	(cm)	DCS
Comprimento dos capítulos secundários	Medida da extremidade inferior até a extremidade superior do capítulo	(cm)	CCS
Diâmetro do fundo	Medida de uma extremidade a outro do fundo	(mm)	DF
Espessura do fundo	Medida da extremidade inferior até a extremidade superior do fundo	(mm)	EF
Massa fresca do fundo	Massa fresca do fundo momento da colheita	(g)	MF
Número de capítulos secundários	Número acima de 100 g coletados até o final do período de colheita		NS
Rendimento	Massa fresca dos capítulos x Número de capítulos por planta	(kg)	RE

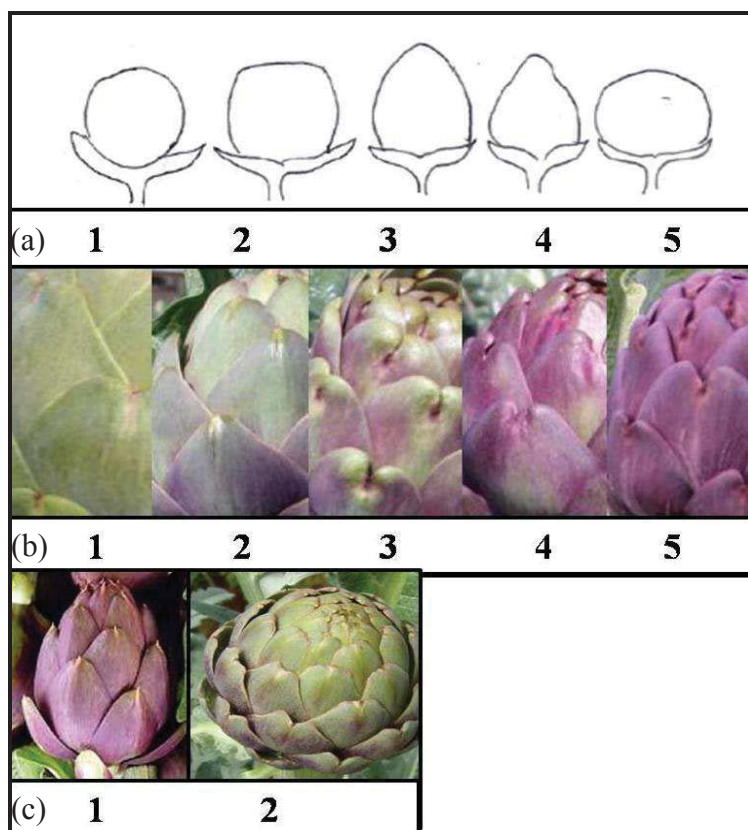


Figura 3 - Representação das classes de (a) formato do capítulo primário: circular (1), elíptico (2), oval (3), triangular (4) e elíptico largo transverso (5); (b) coloração externa das brácteas: verde (1), verde rajado de violeta (2), violeta rajado de verde (3), principalmente violeta (4) e completamente violeta (5) e (c) Presença (1) ou ausência (2) de espinhos nas brácteas externas, Passo Fundo - 2014.

Os dados quantitativos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias das três gerações comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. A estimativa do progresso genético em cada ciclo foi calculada pela diferença dos valores médios de cada população e expresso como porcentagem onde:  $X_1 - X_0$  sendo  $X_1 =$  valor médio da variável no ciclo C1 e  $X_0 =$

valor médio da variável no ciclo C0. Para os dados qualitativos foram avaliadas as frequências de plantas em cada classe e também o aumento dessas para os caracteres desejáveis ao consumo *in natura* ao longo dos ciclos de seleção.

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÕES**

A aceitação da alcachofra no mercado *in natura* depende principalmente dos parâmetros de qualidade dos capítulos como: cor, formato e espinhosidade das brácteas externas (MAURO et al., 2012). Portanto, a condução de um programa de melhoramento para esses caracteres é fundamental quando se objetiva o desenvolvimento de novas variedades. Neste trabalho a aplicação da seleção recorrente fenotípica mostrou ser eficiente na formação de uma população melhorada para as características acima referidas, resultando no aumento da frequência de plantas com capítulo de coloração violeta, circulares e sem espinhos na população C2.

A coloração é um importante parâmetro de qualidade para os vegetais destinados ao consumo *in natura* (AUBERT, 1976; COINTRY, 2001). Na cultura da alcachofra tanto o mercado, quanto o consumidor é exigente nesse aspecto que varia de acordo com regiões e países (MACUA, 1996; CRAVERO, et al., 2005). Em países como França, Itália, Argentina e Brasil a preferência é por capítulos de coloração violeta.

Neste trabalho houve alterações nas frequências de plantas encontradas em cada classe de cor de capítulo ao longo do processo seletivo. As colorações verde, verde rajado de violeta e violeta rajado de verde manifestaram-se três ciclos (C0, C1 e C2) de seleção

recorrente fenotípica (Figura 4). Na população base 39% das plantas tinham capítulos de cor verde enquanto que essa porcentagem nos demais ciclos (C1 e C2) foi de 21% e 12,85% respectivamente. Portanto, houve redução de 26,15% na frequência de plantas com capítulo de coloração verde, considerando o ciclo C0 e o C1 de seleção recorrente.

Para a classe verde rajado de violeta, observou-se aumento de 27,57% na frequência de plantas com essa coloração, no ciclo C1 em relação ao C0, já no ciclo C2 em relação ao ciclo C0 esse aumento foi de 19,15% (Figura 4) indicando que a seleção foi eficiente para esse caráter.

A porcentagem de plantas com capítulos violeta rajado de verde aumentou 15% no ciclo C2, quanto comparado com a população base. A coloração principalmente violeta somente se manifestou no ciclo C0 e no ciclo C1 de seleção recorrente fenotípica, com valores de 8% e 9,83% respectivamente. Capítulos completamente violeta não foram observados em nenhum dos ciclos de seleção recorrente fenotípica.

No último ciclo de seleção recorrente avaliado (C2) apesar de haver diminuído significativamente a frequência de capítulos com coloração verde, ainda ocorreu segregação para essa característica, sendo encontrados capítulos de cor verde, verde rajado de violeta e violeta rajado de verde. Esta segregação pode ser devido a manifestação da variabilidade genética intrínseca em populações de reprodução sexual (BASNIZKI & ZOARY, 2010).

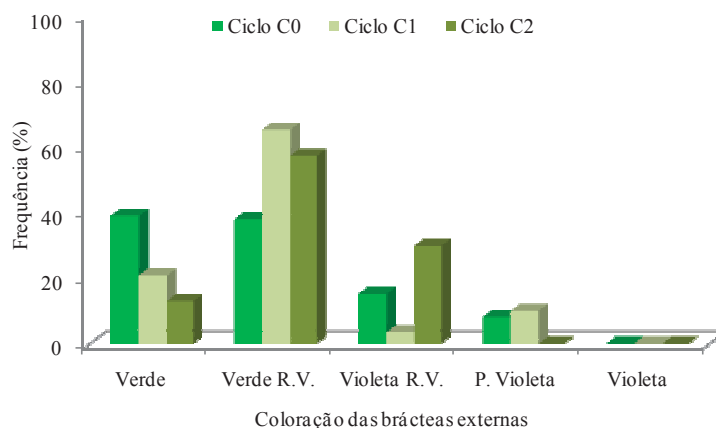


Figura 4 - Frequência relativa as classes de coloração das brácteas externas, encontrados no ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica, Passo Fundo - 2014.

Segundo Cravero et al. (2009) existe alta variabilidade fenotípica para coloração de capítulo nas variedades e cultivares de alcachofra. Violeta e verde são as cores tradicionais, porém há grande variação na intensidade na qual se apresentam, resultando nos fenótipos intermediários (BASNIZKI & ZOHARY, 2010). Para aumentar a uniformidade dessa característica e produzir uma variedade comercial de coloração violeta é necessário conhecer o mecanismo de herança desse caráter. Esse mecanismo foi estudado por Cravero et al. (2005) os quais concluíram que a cor do capítulo é determinada por dois pares de alelos (P, p e U, u) existindo uma dominância completa em cada um dos locos e uma relação epistática recessiva entre esses.

Considerando os resultados obtidos com poucos ciclos de seleção recorrente a mais, esse caráter poderia se estabilizar já que a

tendência é que siga aumentando a frequência de plantas com capítulos de coloração violeta.

A avaliação do formato dos capítulos é necessária porque esse caráter está relacionado à compacidade das brácteas (COINTRY, 2001). De maneira que, capítulos com formato circular possuem mais brácteas internas resultando em maior compacidade, por isto este é o ideotipo desejado pelo mercado *in natura* (DELLACECCA & MARZI, 1976). Já em capítulos cônicos (oval e triangular) há menor número de brácteas internas, portanto menor compacidade e menor resistência a danos por manipulação pós-colheita (FOURY, 1967).

Quanto ao formato dos capítulos o ciclo C0 apresentou 51% de capítulos circulares, essa frequência aumentou para 59% no ciclo C1 enquanto que no ciclo C2 85,71% das plantas tinham esse formato de capítulo (Figura 5). Capítulos elípticos foram observados no ciclo C0 24% e no ciclo C1 3,27 chegando a zero no ciclo C2.

A classe oval foi encontrada na frequência de 15% no ciclo C0, 27,80% no ciclo C1 e 14,29% no ciclo C2, portanto houve aumento de 12,80% no ciclo C1 em relação ao C0 e posterior diminuição de 13,21% no ciclo C2 em relação ao C1 (Figura 5). Capítulos triangulares se manifestaram apenas no ciclo C1 (9,83%) enquanto que o formato elíptico largo transversal esteve presente apenas na população base (10%).



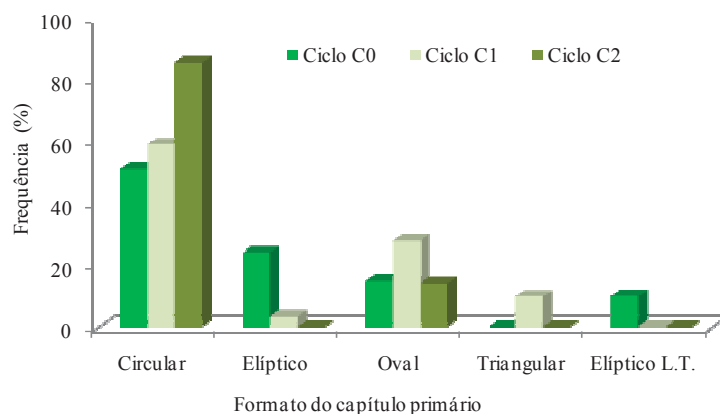


Figura 5 - Frequência relativa as classes de formato de capítulo primário, nos ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica, Passo Fundo - 2014.

O desenvolvimento de uma variedade com ausência de espinhos na ponta das brácteas é importante porque a presença desses dificulta a colheita, o manejo pós-colheita e é incomodo ao consumidor no momento do consumo (BASNIZKI & ZOHARY, 2010). Pecaut & Foury (1992) determinaram o mecanismo de herança dessa característica, para esses autores, a ausência de espinhos está determinada por um gene dominante (Sp) enquanto que o tipo espinhoso é determinado pela forma recessiva desse gene (sp).

No ciclo C0 foi observada uma diferença de apenas 2% entre as duas classes, onde 51% das plantas apresentaram espinhos (Figura 6). Esta diferença se tornou mais significativa ao longo dos ciclos com a redução da frequência de plantas com espinhos nas brácteas externas. No ciclo C1 13,11% das plantas apresentaram espinhos. Já no ciclo C2 de seleção recorrente fenotípica apenas 2,85% das plantas tiveram a presença de espinhos, o restante, 97,15% não apresentou espinhos nas bracteas externas (Figura 6).

Apesar de ao final se ter logrado quase 100% de plantas sem espinhos na ponta das brácteas dos capítulos, excluir totalmente essa característica é praticamente impossível devido ao seu caráter recessivo, pois pode ficar mascarada nos heterozigotos e vir a se manifestar novamente dentro da população.

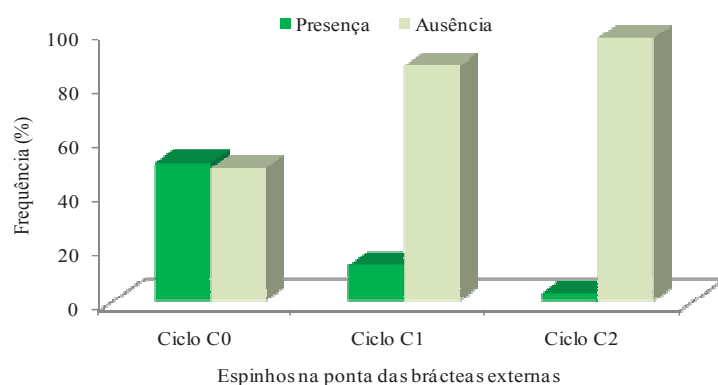


Figura 6 - Frequência relativa a presença ou ausência de espinhos na ponta das brácteas externas encontrados nos ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica, Passo Fundo - 2014.

Considerando o ideotipo ideal ao mercado *in natura*, ou seja, capítulos com coloração violeta, formato circular e sem espinhos na ponta das brácteas externas (PAPALINI & ZUCCHERELLI, 2005) houve aumento das frequências dessas características ao longo do processo seleção recorrente fenotípica. Para cálculo da frequência final de capítulos de coloração violeta foi considerada a soma das classes verde rajado de violeta, violeta rajado de verde e principalmente violeta, assim o aumento dessa frequência foi de 25,42% chegando ao ciclo C2 com 87 % de plantas com capítulos com traços de coloração violeta (Figura 7).

Para formato de capítulos o aumento total na frequência de indivíduos com capítulos circulares foi de 34,7% sendo encontrados no ciclo C0 51%, no ciclo C1 59% e no ciclo C2 85,7% de plantas com esse formato (Figura 7). Quanto a outra característica exigida pelo mercado *in natura*, ausência de espinhos, os valores foram de 51% ciclo C0, 86 % no C1 e 97,2% no ciclo C2 havendo aumento final de 43,2% na porcentagem de plantas sem espinhos na ponta das brácteas (Figura 7).

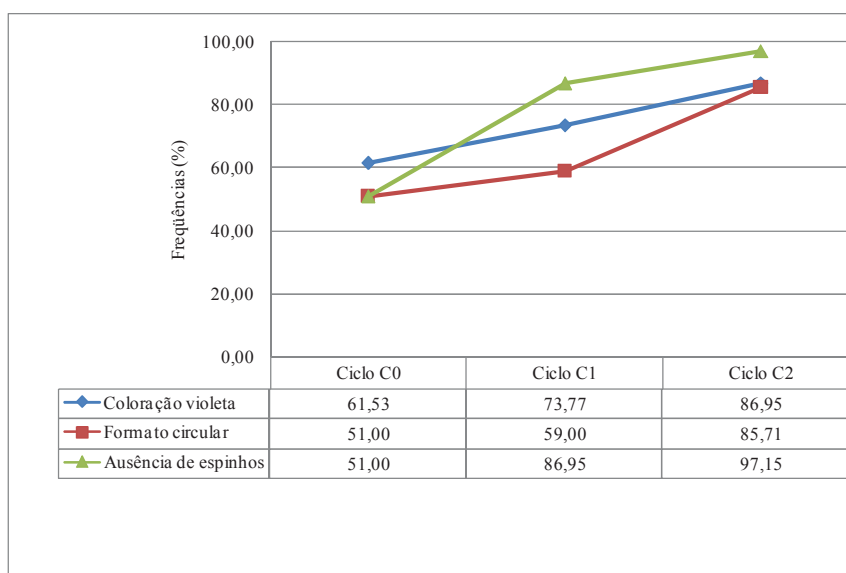


Figura 7 - Frequência relativa e aumento das mesmas ao longo do processo de seleção recorrente fenotípica para as características coloração violeta, formato circular e ausência de espinhos na ponta das brácteas, Passo Fundo - 2014.

Com base nestes resultados o esquema de seleção aplicado para esses três caracteres foi eficiente, pois houve aumento de suas

frequências dentro das classes desejadas ao longo dos três ciclos de seleção recorrente fenotípica, resultando em uma população melhorada (C2) para essas características. Esse avanço pode ser justificado pelo fato do processo seletivo ter sido aplicado sobre características qualitativas, governadas por poucos genes de efeito maior e definido sobre o fenótipo e que sofrem pouco influência do ambiente (ROCHA et al., 2008).

Apesar do esquema de seleção visual, conduzido neste trabalho, ter considerado apenas caracteres qualitativos, avaliar as características quantitativas, bem os possíveis ganhos obtidos na média da população final é fundamental, para verificar a eficiência do processo e do método de melhoramento utilizado, pois a pressão de seleção aplicada sobre os caracteres de qualidade pode influenciar indiretamente a frequências alélicas dos quantitativos, resultando em alterações nas mesmas.

Houve variação significativa entre ciclos para a maioria dos caracteres quantitativos avaliados (Tabela 1), ou seja, dias de implantação à colheita (DIC), duração do período de colheita (DC), comprimento (CCP) e diâmetro do capítulo primário (DCP), número (NCS) e diâmetro de capítulos secundários (DCS), espessura (EF) e diâmetro de fundo (DF) e rendimento (RE).

A existência de variação entre ciclos, indica a possibilidade de haver ganhos ou perdas com o avanço do processo seletivo.

Ausência de variação significativa foi observada para as variáveis: massa fresca (MFS) e comprimento dos capítulos secundários (CCS) o que pode ser atribuída ao modelo seletivo

aplicado o qual considerou apenas o aspecto do capítulo primário. O mesmo vale para massa fresca do fundo (MF).

Tabela 1 - Análise de variância os ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica, Passo Fundo - 2014

Variáveis	GL	SQ	QM	CV%	F teste
DIC	2	3457,58	1743,79	7,73	0,001*
DC	2	1835,40	917,70	27,40	0,000*
CCP	2	101,02	50,51	15,15	0,000*
DCP	2	196,86	98,43	14,96	0,000*
NCS	2	67,76	33,88	47,33	0,000*
MFS	2	2523,54	1261,77	27,09	0,274ns
CCS	2	3,53	1,76	15,60	0,270ns
DCS	2	17,93	8,96	15,41	0,001*
MFF	2	21558,03	10779,01	38,99	0,665ns
EF	2	4554,94	2277,47	21,01	0,000*
DF	2	12461,34	6230,82	21,70	0,000*
RE	2	805166,43	402583,21	54,32	0,000*

Análise de variância ( $p < 0.01^*$ ) período de implantação a colheita (DIC), duração da colheita (DC), comprimento dos capítulos primário (CCP), diâmetro do capítulo primário (DCP), número de capítulos secundários (NCS), massa fresca do capítulo primário (MFS), altura média dos capítulos secundários (CCS), diâmetro médio dos capítulos secundários (DCS), massa fresca do fundo (MFF), diâmetro do fundo (DF), espessura do fundo (EF), rendimento (RE).

Quanto a variável dias de implantação à colheita o ciclo C0 (210 dias) diferiu do ciclo C2 (200 dias) indicando a redução de dez dias no ciclo e uma tendência a precocidade (Figura 8). Essa característica é bastante influenciada por fatores ambientais como temperatura, fotoperíodo e disponibilidade hídrica.

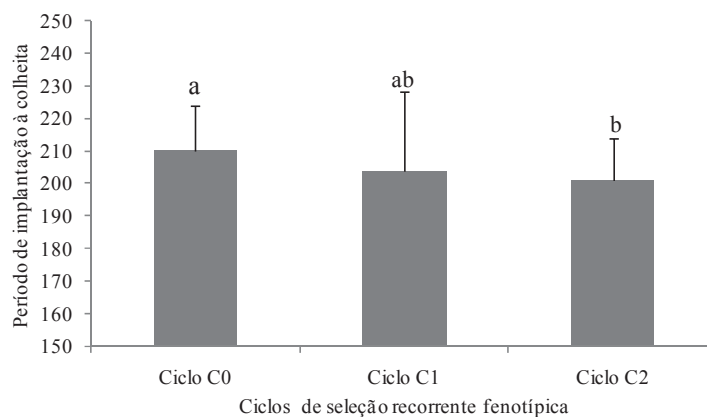


Figura 8 - Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro os ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica para a variável período de implantação à colheita. Letras comparam as médias entre tratamentos. Passo Fundo - 2014.

A alcachofra se desenvolve em temperaturas diárias entre 20-22 °C e noturnas de 12-14 °C (FERRARI et al., 2001) já temperaturas acima de 29 °C aceleram o período de colheita (WELBAUM, 1994). Em geral, as temperaturas médias mensais, em 2012, quando foi avaliado o ciclo C2, foram mais altas que nos demais anos de avaliação, o que pode explicar a menor duração do ciclo observada da geração C1 e o ganho de - 4,28% em relação ao ciclo C0 (Tabela 2).

Esses resultados são positivos já que um dos objetivos do melhoramento da cultura é o desenvolvimento de materiais mais precoces, porém considerando as variações ambientais entre anos, para determinar qual o ganho real é necessária a condução de um experimento, avaliando os três ciclos sob as mesmas condições ambientais.

A variável duração do período de colheita está associada com o tempo em que a planta se mantém produtiva, ou seja, período compreendido entre a colheita do capítulo primário e do último secundário com aptidão para mercado *in natura* (acima de 100 g).

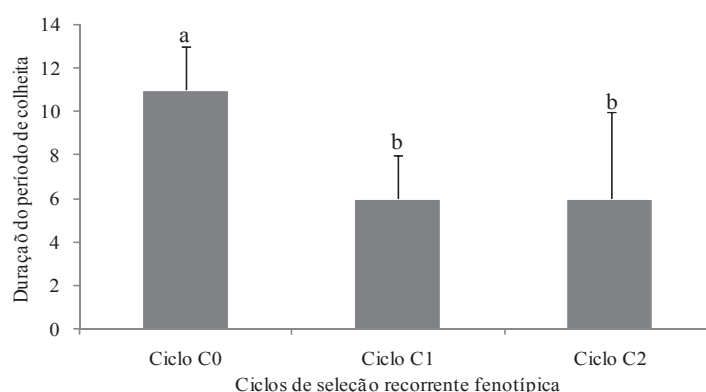


Figura 9 - Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro entre os ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica para a variável duração do período de colheita. Letras comparam as médias entre tratamentos. Passo Fundo - 2014.

Para o caráter acima o ciclo C0 diferiu significativamente dos ciclos C1 e C2 (Figura 9) os quais não apresentaram diferenças entre si. Os desvios observados mostram que há variação dentro de cada ciclo para esse caráter. Houve redução desse período com o avanço do processo seletivo e ganho final negativo (- 45,45%) (Tabela 2). Essa redução pode estar associada ao aumento da precocidade.

As características quantitativas relacionadas ao capítulo primário são parâmetros importantes no desenvolvimento de materiais com aptidão ao consumo *in natura* (CRAVERO et al., 2004) visto que o capítulo apresenta as partes comestíveis da alcachofra. Quanto ao

diâmetro do capítulo primário o ciclo C1 (9,44 cm) foi superior ao ciclo C2 (8,62) que por sua vez diferiu da geração C0 (Figura 10). Houve um ganho de 27,11% no ciclo C1 em relação ao C0, porém do ciclo C1 para o ciclo C2 o ganho estimado foi menor (5,62%) (Tabela 2).

No último ciclo (C2) de seleção recorrente fenotípica os valores médios foram 8,52% maiores que no ciclo C0 para a característica acima (Tabela 2). O menor ganho que se obteve no ciclo (C2) em relação ao (C1) se deve possivelmente a uma redução na variabilidade genética para esses caracteres na população porque se acerca de um linear de seleção.

Tabela 2 - Ganhos estimados entre a população base ciclo C0-ciclo C1, ciclo C1-C2 e ciclo C0-ciclo C2 (ganho final), Passo Fundo - 2014

<b>Variáveis</b>	<b>C0 - C1</b>		<b>C1 - C2</b>		<b>Final</b>
DIC	- 9	- 4,28 %	+ 2	1 %	- 4,28%
DC	- 5	- 45,45 %	+ 1	16 %	- 45,45%
CCP	+ 1,49	18,74 %	- 0,82	- 8,68 %	17,48%
DCP	+ 1,99	27,11 %	- 0,52	- 5,62 %	8,42%
NCS	0	0 %	+ 1	33,33 %	33,33%
DCS	0,41	5,56 %	+ 0,16	2,05 %	7,73%
EF	4,27	46,46 %	+ 5,49	7,83 %	98%
DF	3,18	7,17 %	+ 5,69	17,55 %	1,05%
RE	- 118,69	- 26,67 %	+ 117,83	36,11 %	0%

Período de implantação a colheita (DIC), duração da colheita (DC), comprimento dos capítulos primário (CCP), diâmetro do capítulo primário (DCP), número de capítulos secundários (NCS), diâmetro médio dos capítulos secundários (DCS), diâmetro do fundo (DF), espessura do fundo (EF), rendimento (RE).

O comprimento do capítulo primário apresentou igual comportamento que o diâmetro, onde o ciclo C1 apresentou maior valor em relação ao ciclo C2, que foi superior ao C0 (Figura 11). De



maneira observa-se um ganho de 18,74% no ciclo C1 em relação ao ciclo C0 e uma perda de 8,68% no ciclo C2 em relação ao C1 (Tabela 2). O ganho final para esse caráter de 17,48% (Tabela 2).

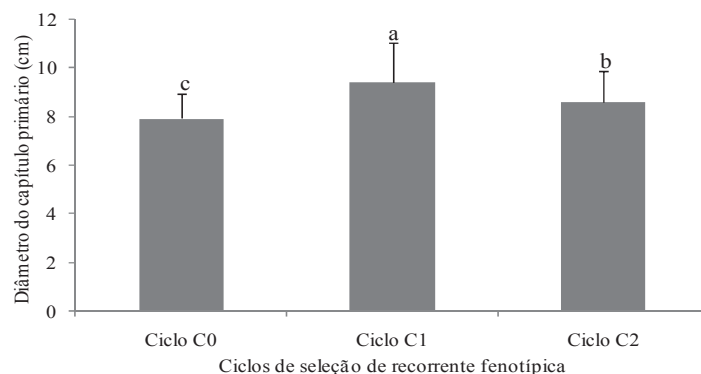


Figura 10 - Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro os ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica para a variável diâmetro do capítulo primário. Letras comparam as médias entre tratamentos. Passo Fundo -2014.

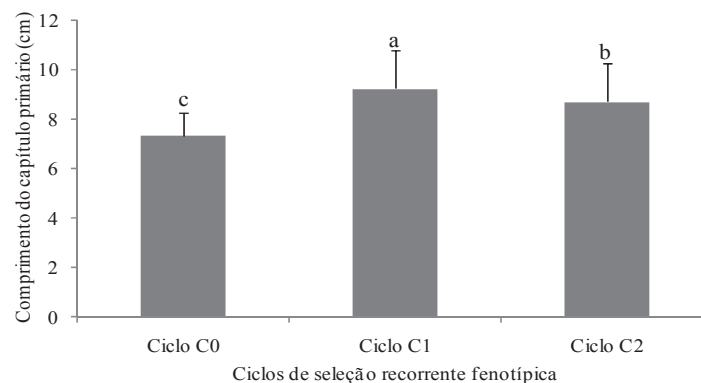


Figura 11 - Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro os ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica para a variável comprimento do capítulo primário. Letras comparam as médias entre tratamentos. Passo Fundo - 2014.

De acordo com Asprelli (2000) a relação comprimento x diâmetro determina o formato do capítulo. Com base nestes resultados essa relação se manteve, já que ambos apresentaram ganhos finais positivos. Portanto, pode-se inferir que pressão de seleção aplicada para formato do capítulo primário resultou em incremento no diâmetro e comprimento do mesmo.

O número de capítulos secundários está diretamente correlacionado com rendimento (CRIPPA et al., 2011; REOLON-COSTA et al., 2012). Quanto a esse caráter o ciclo C2 diferiu do ciclo C0 e do C1, esses últimos não apresentaram variação entre si (Figura 12). Foi observado aumento de um capítulo primário no ciclo C2 em relação ao C1 e ao C0, representado um ganho final de 33,33% (Tabela 2).

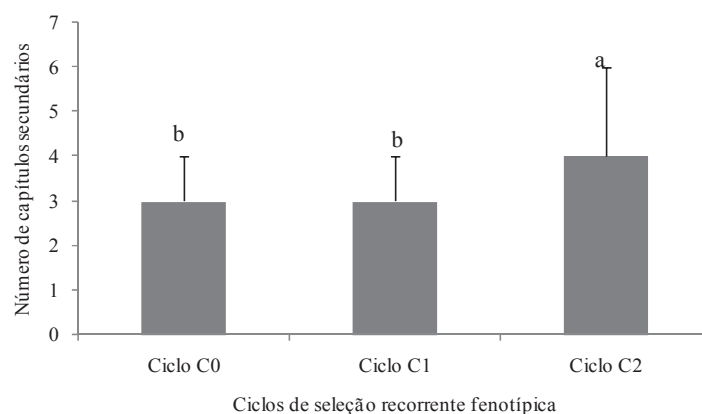


Figura 12 - Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de os ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica para a variável número de capítulos secundários. Letras comparam as médias entre tratamentos. Passo Fundo - 2014.

O alto desvio padrão observado na população do ciclo C2 mostra a existência de variação dentro dessa quanto a essa característica (Figura 12).

Para diâmetro dos capítulos secundários, o ciclo C2 foi superior ao ciclo C0 (Figura 13), porém não apresentou diferença significativa do ciclo C1 de seleção recorrente fenotípica. O ganho estimado entre o ciclo C0 e o ciclo C1 foi de 5,56% e entre esse e o ciclo C2 de 2,05%. Já ganho final para essa variável foi de 7,73% (Tabela 2).

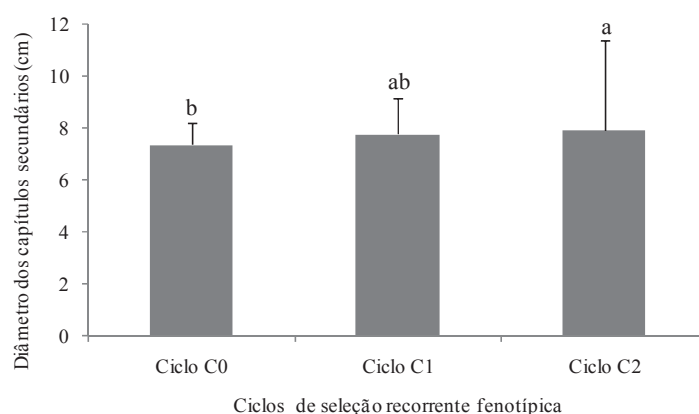


Figura 13 - Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro entre os ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica para a variável diâmetro dos capítulos secundários. Letras comparam as médias entre tratamentos. Passo Fundo - 2014.

As partes comestíveis da alcachofra para consumo *in natura* são à base das brácteas, fundo (receptáculo floral) e as brácteas internas (coração) (REOLON- COSTA et al., 2012; MAURO et al.; 2011). Neste sentido, a avaliação desses caracteres é importante para o

mercado *in natura*. Quanto à espessura do fundo a população do Ciclo C2 foi superior ao C1, que por sua vez, obteve maiores valores que o C0 (Figura 14). Quanto ao ganho estimado, ciclo C1 apresentou ganho de 46,46% em relação ao ciclo C0, enquanto que o ciclo C2 foi 7,83% melhor que o C1, representando ganho total de 98% (Tabela 2). Em termos numéricos isso representa um aumento de aproximadamente 10 mm na espessura do fundo, parte comestível do capítulo.

Já, para diâmetro do fundo o ciclo C2 foi diferente apenas do ciclo C1 (Figura 15). O ganho estimado no ciclo C2 em relação ao ciclo C1 de seleção recorrente fenotípica foi de 17,55%. Esse ganho pode estar relacionado ao aumento do diâmetro dos capítulos e da frequência de capítulos com formato circular. No entanto no ciclo C2 em relação ao ciclo C0 o ganho foi baixo (1,05%), ou seja, o diâmetro do fundo se manteve.

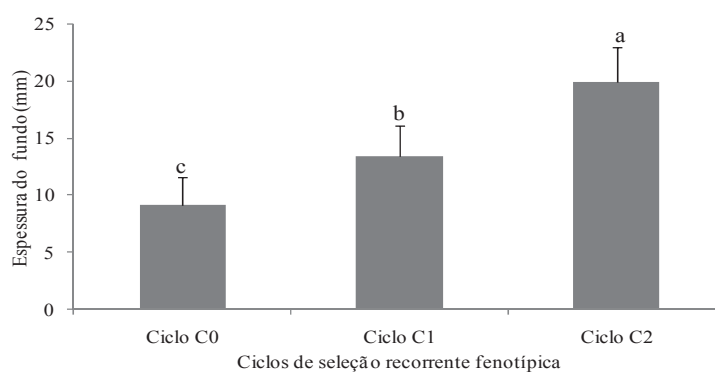


Figura 14 - Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro os ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica para a variável espessura do fundo. Letras comparam as médias entre tratamentos. Passo Fundo - 2014.

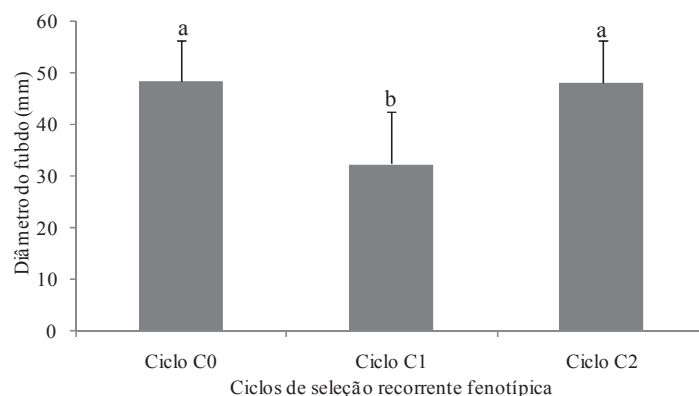


Figura 15- Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro os ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica para a variável diâmetro do fundo. Letras comparam as médias entre tratamentos. Passo Fundo - 2014.

O rendimento é uma característica poligênica, ou seja, governada por vários genes de efeito aditivo, de baixa herdabilidade e, portanto, sobre influência direta dos fatores ambientais (BORÉM & MIRANDA, 2009). Essa característica é mensurada pela multiplicação do número de capítulos secundários pela massa fresca de capítulos. Neste trabalho a população base apresentou diferenças significativas apenas do ciclo C1, não diferindo do ciclo C2 de seleção recorrente (Figura 15).

O ganho estimado no ciclo C2 em relação C1 foi de 36,11% (Tabela 2) esse incremento se deve ao aumento no número de capítulos secundários que manifestou uma alteração positiva de 33,33%, pois conforme Cravero (2001) esse caráter representa o principal componente do rendimento em alcachofra. Cravero et al.

(2003) também obtiveram ganhos positivos para rendimento (42.1%) e número de capítulos (34.5%) em uma geração de seleção recorrente.

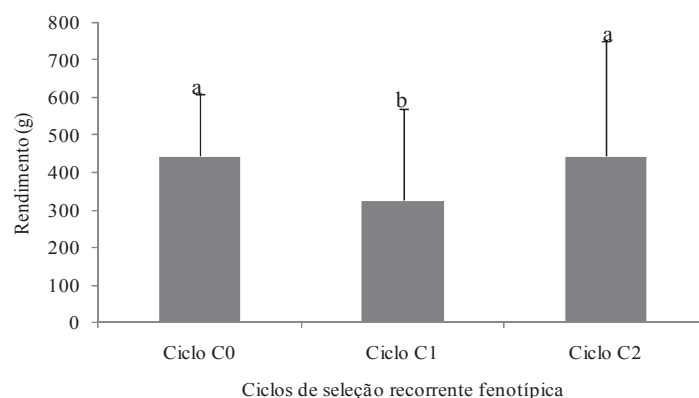


Figura 16 - Comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro os ciclos C0, C1 e C2 de seleção recorrente fenotípica para a variável diâmetro dos capítulos secundários. Letras comparam as médias entre tratamentos. Passo Fundo - 2014.

Com base nos resultados acima descritos se obteve ganhos significativos para os caracteres de qualidade, pelo aumento das frequências de plantas com o ideotipo desejado ao consumo *in natura*, ou seja, com capítulos de coloração violeta, formato circular e sem espinhos nas brácteas externas.

Já para as características quantitativas foi observada variação entre ciclos, de maneira que, podemos inferir que houve reposta a pressão de seleção aplicada. Os caracteres: comprimento e diâmetro do capítulo primário, número e diâmetro dos capítulos secundários, e espessura de fundo, apresentaram ganhos finais significativos, que podem ser atribuídos a manifestação de genes com

efeitos aditivos no ciclo C2. Considerando que os caracteres quantitativos sofrem influência das variações de ambiente, para calcular o ganho real obtido com o processo de seleção recorrente fenotípica deve-se conduzir um novo experimento, onde as três gerações possam ser avaliadas sob as mesmas condições ambientais. Mesmo assim, os resultados neste trabalho são importantes, pois, a estimativa dos ganhos obtidos, permite ter uma visão da eficiência do método de melhoramento utilizado e serve como parâmetro para o planejamento das próximas etapas do programa.

Quanto aos parâmetros qualitativos a metodologia aplicada foi eficiente resultando em uma população melhorada, porém o mercado de alcachofra para consumo *in natura* está cada vez mais exigente quanto à qualidade e uniformidade de capítulos (CRAVERO et al., 2004) e se nota que ainda há segregação para cor, formato de capítulo e espinhosidade das brácteas na geração do ciclo C2. Portanto, é necessária a condução de mais ciclos de seleção recorrente fenotípica para lograr a estabilidade e uniformidade necessária em uma variedade comercial de polinização aberta.

#### 4 CONCLUSÕES

- a) A condução do processo de seleção recorrente fenotípica resultou em uma população de alcachofra melhorada para os caracteres de qualidade de capítulo;
- b) Os caracteres comprimento e diâmetro do capítulo primário, número e diâmetro dos capítulos secundários e espessura de fundo apresentaram ganhos finais significativos.

### CAPÍTULO III

#### CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE TRÊS CICLOS DE SELEÇÃO RECORRENTE FENOTÍPICA COM BASE EM MARCADORES MICROSSATÉLITES E SRAPs

ANGÉLICA REOLON DA COSTA<sup>1</sup>

**RESUMO** - O objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto da seleção nas frequências alélicas e na variabilidade genética de três gerações de seleção recorrente fenotípica em alcachofra, a partir do emprego de dois tipos de marcadores moleculares de DNA. O DNA genômico foi extraído com o auxílio do Kit de extração da Qiagen, a partir de folhas jovens coletadas aleatoriamente de 30 plantas de cada ciclo de seleção recorrente fenotípica (C0, C1 e C2). A quantificação do DNA foi realizada por eletroforese em gel agarose (1%). Foram utilizados 15 microssatélites (SSRs) e sete combinações sequências relativas a polimorfismo amplificado (SRAPs). Os produtos das amplificações foram observados com auxílio da técnica de eletroforese em gel poliacrilamida (6%) e corados com nitrato de prata. Foi estimada a porcentagem de locus polimórficos, frequências alélicas, número de alelos, número de alelos efetivos, heterozigosidade observada, heterozigosidade esperada, coeficiente de endogamia (FIS, FIT e FST), índice de identidade genética e variância molecular (AMOVA). Dos 15 microssatélites, quatro amplificaram, com polimorfismo para os quatro locus (100%) em todos os ciclos. Das sete combinações

---

<sup>1</sup>Bióloga, Mestre em Agronomia, Doutoranda em Agronomia, Programa de Pós Graduação em Agronomia – Universidade de Passo Fundo.



SRAPs testadas, três amplificaram, sendo observado no total 61 locus e variação na porcentagem de locus polimórficos entre ciclos. Alteração aleatória na frequência de alelos foi observada com os dois marcadores. Os valores Heterozigosidade observada para os SSRs indicam que não houve redução da variabilidade genética o que é comprovado pelos valores negativos de FIS e FIT. Para os marcadores SRAPs somente foram obtidos os valores de heterozigosidade esperada, os quais foram menores do que os encontrados com microssatélites. Quanto à distribuição da variação molecular, maior variação foi observada dentro dos ciclos, e menor entre ciclos, para os dois marcadores. Portanto, ocorreram alterações nas frequências alélicas em decorrência do esquema de seleção aplicado e não houve redução da variabilidade genética nas três gerações de seleção recorrente fenotípica.

**Palavras chave:** *Cynara cardunculus* [var. *scolymus* (L.) Fiori], frequências alélicas, variabilidade genética.

**MOLECULAR CHARACTERIZATION OF THREE CYCLES OF  
PHENOTYPIC RECURRENT SELECTION WITH  
MICROSATELLITES AND SRAPs MARKERS**

**ABSTRACT** – The objective these work was evaluate the impact of selection o allele frequencies and of genetic variability of three generations of phenotypic recurrent selection in artichoke from the use two types of DNA molecular markers. The genomic DNA was extracted whit the aid of DNA extraction kit Qiagen, from young

leaves collected randomly of 30 plants in each phenotypic recurrent selection (C0, C1 e C2). The quantification of DNA was performed by electrophoresis in agarose gel (1%). Where used 15 microsatellites (SSRs) and seven combinations Sequence-Related Amplified Polymorphisms (SRAPs). The amplification products where observed with the technique of electrophoresis in polyacrylamide gels (6%) and stained with silver nitrate. Where estimated the percentage of polymorphic loci, allele's frequencies, number of alleles, number of effective alleles, heterozygosis observed, heterozygosis expected, coefficient inbreeding (FIS, FIT e FST), index of genetic identity and molecular variance (AMOVA). Of 15 microsatellites, four amplified with the polymorphism for four loci (100%) in all cycles. The seven combination SRAPs tested, three amplified, observable a total of 61 loci and variation of percentage of polymorphic loci between cycles. Amendment random of alleles frequency was observed with the two markers. The values of heterozygosis observed for the SSRs indicate that no reduction of variability genetic, this is evidence by the negative values the FIS and FIT. For SRAPs markers only where obtained the values of heterozygosis expected, which were lower than those found with microsatellites. As the distribution of molecular variance, greater variation was observed within each cycle and lower between cycles, for of two markers. Therefore changes occurred of allele's frequencies from result the schema of selection applied and no reduction of genetic variability of three generation of phenotypic recurrent selection.

**Key words:** Allele's frequencies, *Cynara cardunculus* [var. *scolymus* (L.) Fiori], genetic variability.

## 1 INTRODUÇÃO

A seleção recorrente fenotípica é um método de melhoramento intrapopulacional, que teoricamente, permite o aumento gradual da frequência dos alelos favoráveis sem reduzir a variabilidade genética da população (BORÉM & MIRANDA, 2009).

Entretanto, na prática, essa metodologia provoca mudanças nas frequências alélicas, na distribuição da variabilidade genética e, portanto, na estrutura genética da população original, podendo haver redução da variabilidade após alguns ciclos de seleção recorrente fenotípica (BUENO et al., 2001). Assim, a verificação dos parâmetros genéticos ao longo dos ciclos de seleção é importante para garantir o sucesso do método.

Nesse contexto, marcadores moleculares codominantes, como os microssatélites (SSRs - Repetições de sequência simples) consistem em uma ferramenta adequada nesse tipo de avaliação, pois identificam alterações e perdas alélicas em cada loco individualmente (OLIVEIRA et al., 2005). Além disso, essa classe de marcadores oferece muitas outras vantagens como: hipervariabilidade nos padrões de bandas e requer baixa quantidade de DNA para análise em PCR (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1995; BIANCO et al., 2011).

O limitante desse tipo de marcador é necessidade do conhecimento prévio de sequências específicas do genoma da espécie em estudo e a complexidade no desenvolvimento dos mesmos. Para alcachofra já foram desenvolvido microssatélites (ACQUADRO et al.,

2003, 2005a, b, 2009) não sendo uma variável limitante nessa cultura (CASADEVALL et al., 2011) e ao longo dos anos, um substancial número de ensaios foram conduzidos (ACQUADRO et al., 2003, 2005a, b, 2009; MAURO et al. 2009; PORTIS et al., 2005a, b, c; LANTERI et al., 2006; PORTIS et al., 2009).

Outra classe de marcadores usada em estudos de variabilidade genética são os SRAPs (Sequências relativas a polimorfismo amplificado). As duas grandes vantagens dessa tecnologia é que não é necessário o conhecimento prévio de sequências específicas no genoma em estudo e o fato de serem multilocus com grande poder informativo. Em alcachofra já foram usados em estudos de variabilidade, construção de mapas genéticos e identificação de genes (CASADEVALL et al., 2011; MARTIM et al., 2008).

É importante destacar que a combinação de ambas as técnicas é útil porque o uso de marcadores SRAPs permite amplificar marcos abertos de leitura (ORF), ou seja, sequências que tendem a estar mais conservadas no genoma, enquanto que, os microsatélites amplificam regiões não codificantes (centrômeros e telômeros) e portanto mais variáveis. Assim, o uso concomitante dessas duas classes de marcadores permite abranger todo o genoma.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto da seleção nas frequências alélicas e na variabilidade genética em três gerações de seleção recorrente fenotípica.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Biologia Molecular da Faculdade de Agronomia da Universidade Nacional de Rosario/Rosario-Argentina.

O DNA genômico foi extraído com o auxílio do Kit de extração da Qiagen (DNA Extraction - DNeasy Plant Mini Kit Qiagen) a partir de folhas jovens coletadas aleatoriamente de 30 plantas de cada ciclo de seleção recorrente fenotípica (C0, C1 e C2). Os três ciclos foram estabelecidos em abril de 2013, no campo experimental da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo. A quantificação do DNA obtido foi realizada por eletroforese em gel agarose (1%) seguindo quatro etapas: (1) preparação do gel 1% (200 ml de TBE 0,5 M e 2 g de agarose); (2) preparação das amostras (3  $\mu$ l de Green Go taq (5x), 2  $\mu$ l de DNA); (3) corrida do gel (80 volts por 1 hora) e (4) coloração em brometo de etídio por 30 minutos e leitura. Após a quantificação as amostras foram diluídas em água miliQ estéril. As amostras foram comparadas um DNA Marker quantificado a uma concentração conhecida de 100 ng.

Após a quantificação as amostras foram diluídas em água miliQ estéril, de maneira que, a concentração de DNA da solução de trabalho foi de 25 ng.

### 2.1 Protocolo para microssatélites (SSRs)

Foram testados 15 microssatélites desenvolvidos para alcachofra por Acquadro et al. (2009) (Tabela 1). As reações de amplificação foram feitas com volume final de 20  $\mu$ l contendo: água

8,4 µl, buffer 4 µl, dNTPs 0,4 µl (0,2 µM), primer forward 1,0 µl (0,5 µM), primer reverse 1,0 µl (0,5 µM), Taq polimerase 0,2 µl (1U) e 5 µl de DNA (25 ng). As ampliações foram realizadas em termociclador com a seguinte programação: 94 °C por 5 min, 11 ciclos de 94 °C por 30 s, 60 °C por 30 s decrescendo 0,5 °C cada ciclo e 72 °C por 1 min, finalizando com 24 ciclos a 94 °C por 30 s, 55 °C por 30s e 72 °C por 1 min (ACQUADRO et al. 2009).

## 2.2 Protocolo para SRAPs

Foram testadas sete combinações de primers (Me1/Em4, Me1/Em5, Me2/Em4, Me3/Em2, Me3/Em5, Me4/Em3, Me5/Em4) desenvolvidos por Li & Quiros, (2001) (Tabela 2). As reações de amplificação foram feitas com volume final de 10 µl contendo: água 1,5 µl, buffer 2,0 µl, dNTPS 0,2 µl (0,2 µM), primer forward 0,5 µl (0,5 µM) primer reverse 0,5 µl (0,5 µM), taq polimerase 0,1 µl (0,5 U), BSA 0,2 µl (0,4 mg/ml) e 5 µl de DNA (25 ng). As amostras foram amplificadas em termociclador programado para um ciclo inicial de: 5 min a 94 °C, seguido de 3 ciclos de 1 min a 94 °C, 1 min a 35 °C e 1 min a 72 °C, 35 ciclos de 1 min a 94 °C, 1 min a 50 °C e 1 min a 72 °C, com um ciclo final de 1 min a 72 °C.

Os produtos das ampliações para os dois marcadores foram observados com auxílio da técnica de eletroforese em gel poliacrilamida (6%) e corados com nitrato de prata. Para os SSRs o tempo de corrida foi de 1h e 30 min a 100 W, enquanto que, para os SRAPs esse tempo foi de 2h a 100 W.

Foi estimada a porcentagem de locus polimórficos, frequências alélicas, número de alelos, número de alelos efetivos,

heterozigidade observada, heterozigidade esperada, coeficiente de endogamia (FIS, FIT e FST), índice de identidade genética e variância molecular (AMOVA).

Tabela 1 - Relação das sequências de primers microssatélites (SSR) utilizados, Passo Fundo - 2014

<i>Primers</i> (SSR)	Sequências	Tamanho (pb)
Celms 01	F: ACAACACAGAAGCGAGGTCA R: GAATGAGCCGGATTAGCATT	700-800
Celms 06	F: CTCCATTCTGTGATGCAGTGA R: TGTATCAACCTTGGCCTTCC	400-700
Celms 21	F: TGTCATCAACCCCTACTCAGG R: TTCAGATTTACTAACCCAAATGCTT	900-1000
Celms 26	F: ACCATGTCACAACAAACCGA R: TGATTCTCGTAGGTGGAGGG	250-350/800-900
Celms 27	F: ACTGTTGTTGCTGGTAAGGGTT R: AGAAAGGAGGAGGAAAGCATCT	800-900
Celms 29	F: ATCCCCAAATCCAGCAATTT R: TCAATGTGCATGGAAAGAACA	600-700/3000
Celms 33	F: GATGCACCACTTTCCTCTCAC R: ATATGGGCTTTTCTGGTTGTTC	250-350/100-150
Celms 36	F: CACCACTAGTACAATTAACCAT R: AGTAGTGGTAGTTGATGTTAGA	500-700
Celms 37	F: CGCCGGAATATCAAGATTGT R: TACCATCAACTCGGAGAGGG	800-900
Celms 39	F: ATTCCAATCACCTCTGTGGC R: ACTGTATGGTGAAGTCGTTA	200-350
Celms 53	F: TTTGTTACGGAATTCAACG R: GCCCTGTCTCGATAAGATG	500-700
Celms 59	F: TCCGTTATTTCTTGCGGTTA R: TACCTCTCCGTTGGAATTG	300-350/900-100
Celms 13	F: ATGGGACCTTCCTCCAAAATAC R: TCCATCATCACCTCACACGTA	150-200
Celms 15	F: TGGATGGAAACACTCTTCACAG R: TACAGTCCCGATGTGGGTATTT	500-600
Celms 20	F: TTTTATAATTGCAGACTCAAT R: TTCATTTCCAACAAGCCT	300-350/450-600

Tabela 2 - Relação das sequências de primers SRAPs utilizados, Passo Fundo - 2014

<b>Combinações</b>	<b>Sequências</b>
Me1/Em4	F: 5'-TGAGTCCAAACCGGATA-3' R: 5'-GACTGCGTACGAATTTGA-3'
Me1/Em5	F: 5'-TGAGTCCAAACCGGATA-3' R: 5'-GACTGCGTACGAATTAAC-3'
Me2/Em4	F: 5'-TGAGTCCAAACCGGAGC-3' R: 5'-GACTGCGTACGAATTTGA-3'
Me3/Em2	F: 5'-TGAGTCCAAACCGGAAT-3', R: 5'-GACTGCGTACGAATTTGC-3'
Me3/Em5	F: 5'-TGAGTCCAAACCGGAAT-3' R: 5'-GACTGCGTACGAATTAAC-3'
Me4/Em3	F: 5'-TGAGTCCAAACCGGACC-3' R: 5'-GACTGCGTACGAATTGAC-3'
Me5/Em4	F: 5'-TGAGTCCAAACCGGAAG-3' R: 5'-GACTGCGTACGAATTTGA-3'

As análises foram realizadas com o auxílio do programa estatístico GenAIEx6. 41.

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Os marcadores moleculares microssatélites se destacam pela sua natureza codominante, reprodutibilidade e alto nível de polimorfismo gerado (LANTERI et al., 2011). Neste estudo, dos 15 primers microssatélites avaliados, quatro amplificaram, os demais não amplificaram em todas as plantas (Celms 01, Celms 15, Celms 26 e Celms 39). A taxa de polimorfismo foi de 100% para os quatro loci observados o que é atribuído a alta taxa de mutação exibida pelas regiões microssatélites (MATUS & HAYES, 2002). Acquadro et al. (2005b) observaram 65,9% de polimorfismo ao usar microssatélites na



determinação das distâncias genéticas em uma população de *C. Cardunculus*, enquanto que Casadevall et al. (2011) encontraram 92% de locos polimórficos.

As análises mostraram a existência de dois alelos por locus nos quatro microssatélites (Figura 1), os quais foram comuns a todos os ciclos (Tabela 3). Rofano et al. (2013) também observaram a presença de 2 alelos para oito SSRs utilizados na caracterização molecular de diferentes acessos de alcachofra. Já Lanteri et al. (2011) encontraram dois alelos por locus em apenas oito dos 93 locos avaliados, em diferentes genótipos de *Cynara cardunculus*, nos demais esse valor variou entre três e quatro.

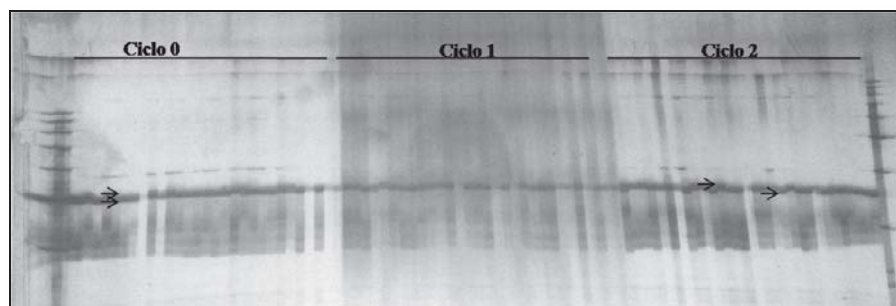


Figura 1 - Gel poliacrilamida, mostrando o produto da amplificação com do microssatélite (Celms 39) demonstrando os dois alelos encontrados, Passo Fundo - 2014.

Os marcadores SRAPs têm caráter dominante, não necessitam de conhecimento prévio do genoma e têm grande poder informativo (MARTIM et al., 2008). Quanto a esses, das sete combinações testadas, três amplificaram (Me1/Em4, Me1/Em5 e Me5/Em4) as demais não amplificaram em todas as plantas. Foi observado no total 61 locos (Figura 2) sendo 25 para a combinação Me1/Em4, 15 para Me1/Em5 e 24 para Me5/Em4 o que se deve ao

caráter multilocus desse marcador (CASADEVALL et al., 2011). Cravero et al. (2007) estudaram a diversidade genética em *Cynara Cardunculus* utilizando sete combinações de primers SRAPs e encontraram um total de 275 fragmentos polimórficos, com uma média de 39 bandas polimórficas por combinação de primers.

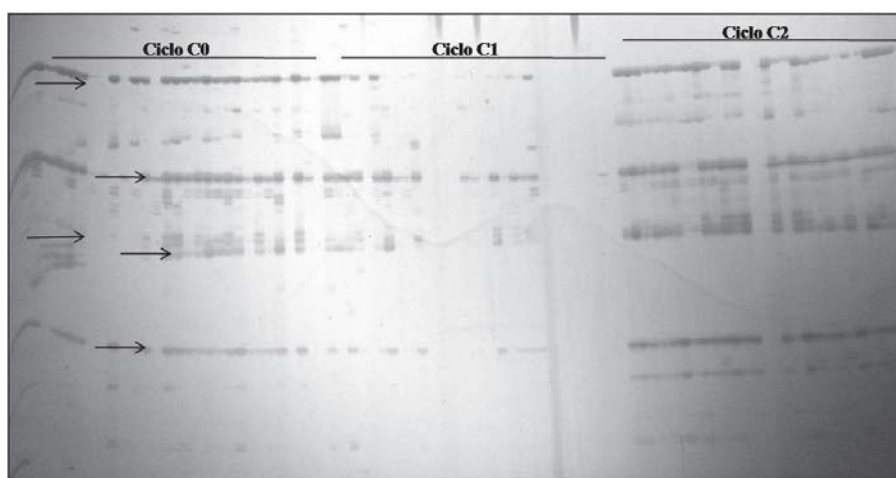


Figura 2 - Gel poliacrilamida, mostrando o produto da amplificação com do SRAPs Me1/Em5 demonstrando os alguns dos lócus encontrados, Passo Fundo - 2014.

A porcentagem de locus polimórficos para SRAPs, ao contrário do observado com SSRs, variou entre ciclos. Foram observados 96,72% de locus polimórficos no ciclo C0, 77,05% no C1 e 72,13% no C2. Enquanto que, o número de alelos por lócus foi de 1,95, 1,54 e 1,44 para os ciclos C0, C1 e C2 respectivamente (Tabela 3).

A diversidade é melhor refletida pelo número efetivo de alelos por locos ( $A_e$ ). Esse índice representa o número de alelos igualmente frequentes numa população ideal, requeridos para produzir

a mesma homoziguidade ou heteroziguidade esperadas na população real (LACERDA et al., 2003).

Tabela 3 - Número de alelos (No), Número efetivo de alelos ( $A_e$ ), Índice de identidade genética (I), Heteroziguidade observada ( $H_o$ ), Heteroziguidade esperada ( $H_e$ ) e frequência de bandas (Fb), Passo Fundo - 2014

<b>Marcadores microssatélites - SSR</b>					
<b>Ciclos</b>	<b>No</b>	<b><math>A_e</math></b>	<b>I</b>	<b><math>H_o</math></b>	<b><math>H_e</math></b>
C0	2	1,97	0,68	0,66	0,49
C1	2	1,93	0,67	0,80	0,48
C2	2	1,95	0,68	0,86	0,48
<b>Marcadores SRAPs</b>					
<b>Ciclos</b>	<b>Fb</b>	<b>No</b>	<b><math>A_e</math></b>	<b>I</b>	<b><math>H_e</math></b>
C0	0,42	1,95	1,53	0,47	0,31
C1	0,27	1,54	1,36	0,35	0,22
C2	0,32	1,44	1,39	0,36	0,24

Quanto ao parâmetro citado acima ( $A_e$ ) os microssatélites apresentaram 1,97 no ciclo C0, 1,93 no C1 e 1,95 no C2 (Tabela 3) enquanto que, para SRAPs o número de  $A_e$  em cada ciclo foi: 1,53 (ciclo C0), 1,36 (ciclo C1) e 1,39 (ciclo C2) (Tabela 3). As frequências alélicas para os dois marcadores serão descritas abaixo. Cabe esclarecer que os microssatélites, por sua natureza codominante permitem a distinção dos homozigotos e heterozigotos, assim podemos determinar a frequência dos alelos p e q, enquanto que o caráter dominante dos SRAPs não permite essa distinção, portanto é calculada a frequência alélica total (p+q).

A determinação da frequência de alelos por ciclo é importante para verificar a ocorrência de alterações na estrutura da população ao longo do processo seletivo. Em relação aos marcadores

SSRs. Para estes houve variação na frequência dos alelos 1 e 2 entre ciclos (Figura 3).

A frequência do alelo 1 foi de 0,50, 0,41, 0,55 e 0,46 para os loci 1, 2, 3 e 4 respectivamente, no ciclo C0. Já no segundo ciclo (C1) houve aumento desses valores nos quatro locus em relação ao anterior, esse aumento foi de 0,08 para o locus 1, 0,15 para o 2, 0,11 para o 3 e 0,04 para o locus 4 (Figura 3).

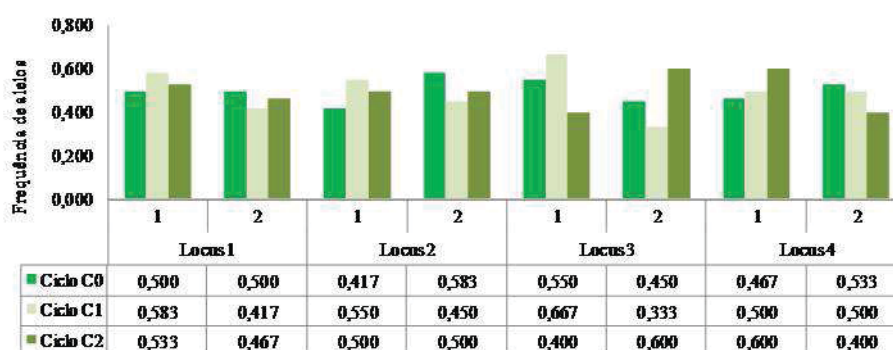


Figura 3 - Frequência dos alelos 1 e 2 nos quatro loci microssatélites avaliados nos três ciclos de seleção recorrente fenotípica em alcachofra, Passo Fundo - 2014.

A elevação da frequência do alelo 1 no ciclo C1, foi seguida pela redução de 0,05 (locus 1 e 2) e 0,26 (locus 3) no ciclo C2 de seleção recorrente. No locus 4 a frequência desse alelo foi de 0,60, ou seja, 0,10 maior que no ciclo C1 (Figura 3). Ao considerar o ciclo C2 em relação ao C0, notamos que há aumento, porém não significativo, da frequência nos loci 1 e 2 e redução nos loci 3 e 4.

Para o alelo 2 a frequência no ciclo C0 foi de 0,50 no locus 1, 0,58 no locus 2, 0,45 no locus 3 e 0,53 para o locus 4, com redução desses valores em todos os locus na população do ciclo C1 de

seleção recorrente fenotípica (Figura 3). No entanto, comparando a frequência do ciclo C1 com o C2, se observa aumento de 0,05 nos locus 1 e 2 e de 0,27 no locus 3, já no locus 4 houve redução de 0,1 na frequência do alelo 2 (Figura 3). Não foram encontrados alelos raros, pois estes devem apresentar uma frequência menor que 0,05, o que não foi observado neste trabalho.

Em relação aos marcadores SRAPs, foi possível observar que, houve flutuações na frequência total de alelos ( $p + q$ ) ao longo do processo seletivo, concordando com resultados descritos acima para microssatélites. No ciclo C0 o valor observado foi de 0,26, no ciclo 1 de 0,15 e para ciclo C2 de 0,20 (Figura 4). Cabe salientar que esses valores são uma estimativa.

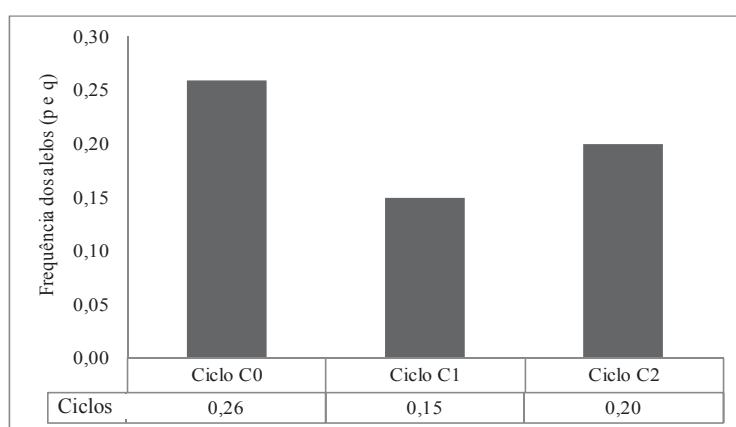


Figura 4 - Frequência total de alelos ( $p+q$ ) observados com marcadores SRAPs nos três ciclos de seleção recorrente fenotípica em alcachofra, Passo Fundo - 2014.

As alterações nas frequências alélicas, descritas neste trabalho podem ser justificadas pela metodologia de melhoramento a qual a população foi submetida. Sabe-se que a seleção recorrente

provoca mudanças nas frequências alélicas e na distribuição da variabilidade genética (BUENO et al., 2001; BORÉM & MIRANDA, 2009) fato observado neste estudo. Porém as alterações nas alterações alélicas que se observam, ocorrem de forma aleatória, já que aumentam em um ciclo e diminuem em outro, ou seja, não seguem uma tendência de fixação dos alelos, salvo no locus 4. Portanto, os locos analisados não estão associados com as características fenotípicas as quais foi aplicada a pressão de seleção, pois se, essas flutuações estivessem associadas às modificações fenotípicas observados no capítulo II, deveriam ter uma tendência a fixar alelos ao longo do processo.

O índice de identidade genética (I) para os SSRs foi constante em todos os ciclos, sendo de 0,68 para os ciclos C0 e C2 e 0,67 para o ciclo C1, enquanto que, para SRAPs esse índice de variou de 0,47 a 0,36 (Tabela 3). Os valores desse índice próximos a um indicam que as populações têm frequência de alelos similares e fixaram os mesmos alelos.

Em um programa de melhoramento conduzido por seleção recorrente a manutenção da variabilidade genética ao longo do processo seletivo é fundamental na obtenção de ganhos genéticos para caracteres quantitativos. Esse aspecto pode ser mensurado pela medida da heterozigosidade observada ( $H_o$ ) em cada ciclo. Essa medida se refere à proporção de indivíduos heterozigotos numa população (ROCHA, 2009).

A análise com marcadores microssatélites demonstrou que a heterozigosidade observada variou ao longo do processo seletivo, com valores de 0,66 no ciclo C0, 0,80 no C1 e 0,86 no ciclo

C2 (Tabela 3). Estes resultados indicam que houve alterações na variabilidade genética observada nos três ciclos de seleção recorrente fenotípica. Nota-se também que essa variabilidade não reduziu, justificando os ganhos obtidos para os caracteres quantitativos observados no capítulo II desta tese.

Já para heterozigosidade esperada ( $H_e$ ), parâmetro que pode ser definido como uma fração estimada de todos os indivíduos que poderiam ser heterozigótico de um loco, considerando uma população em equilíbrio de Hardy Weinberg (McMANUS et al., 2011) os valores obtidos foram menores que os de  $H_o$ . Quando a  $H_e$  equivale à heterozigosidade observada, se considera que as populações estão em completo equilíbrio (MENEZES, 2005) neste trabalho os valores de  $H_e$  foram menores que  $H_o$  indicando que os três ciclos de seleção não estão em equilíbrio, fato esperado já que a população foi submetida a uma pressão de seleção.

Para os marcadores SRAPs a heterozigosidade observada não pode ser calculada em função da natureza dominante desses. Já os valores estimados de heterozigosidade esperada foram de 0,31 (ciclo C0), 0,22 (ciclo C1) e 0,24 (ciclo C2), ou seja, menores que os observados com SSRs (Tabela 3).

Com os marcadores microssatélites podemos calcular as variações genéticas existentes pela estatística F descrita pela teoria de Sewall Wright nas décadas de 40 e 50 e que introduziu os parâmetros  $F_{ST}$ ,  $F_{IT}$  e  $F_{IS}$  (ARAÚJO, 2004; MENEZES, 2005). Onde  $F_{ST}$  é o índice de fixação ou coeficiente de consanguinidade entre subpopulações e seu valor é utilizado para medir a distância entre

essas. Neste trabalho os valores de FST variaram entre -0,01 e 0,01 indicando que há pouca diferenciação genética entre ciclos (Tabela 4).

Tabela 4 - Coeficiente de endogamia (f) nos quatro lócus de microssatélites analisados em três gerações de seleção recorrente fenotípica de alcachofra, Passo Fundo - 2014

	<b>Lócus 1</b>	<b>Lócus 2</b>	<b>Lócus 3</b>	<b>Lócus 4</b>	<b>Média</b>
Fis	-0,69	-0,84	-0,24	-0,57	-0,58
Fit	-0,67	-0,82	-0,18	-0,55	-0,56
Fst	0,00	-0,01	0,04	0,01	0,01

\*\*Coeficiente de consanguinidade intrapopulacional (Fis), redução da heterozigosidade (Fit) e índice de fixação (Fst).

Os valores FIS referem-se ao coeficiente de consanguinidade intrapopulacional, ou seja, a redução da heterozigosidade do indivíduo com relação a sua população, onde valores de FIS maior que zero, significam ocorrência de endogamia, enquanto que valor FIT indica redução da heterozigosidade de um indivíduo com relação à metapopulação (BARROS, 2009). Para esses dois parâmetros os valores observados foram negativos, indicando que há variabilidade genética dentro de cada ciclo (OLIVEIRA, 2007) e que não há ocorrência de depressão por endogamia. O que é um fator positivo, considerando que a endogamia resulta na diminuição da expressão de caracteres quantitativos e conseqüentemente, redução do valor fenotípico médio de diferentes caracteres (FALCONER & MACKAY, 1996).

Os valores negativos de FIS e FIT observados permitem ainda, concluir que, a pressão de seleção aplicada nas três gerações (C0, C1 e C2) foi eficiente e o tamanho da população mantido foi adequado, já que, os coeficientes (f) de uma dada geração, é em



função, além de outros fatores, do tamanho efetivo populacional (HALLAUER, et al., 1988). A redução dos indivíduos de uma população causa o aumento das taxas de endogamia aleatória e maiores efeitos da deriva genética, levando a perdas de alelos importantes (FALCONER & MACKAY, 1996).

A distância genética de Nei (1973) estima o número de substituições gênicas que ocorrem em genes de duas populações desde sua divergência a partir de um ancestral comum. Neste trabalho esse parâmetro foi calculado com base nos dois marcadores usados. Para SSRs os valores observados foram: C0 X C1 (0,99), C0 XC2 (0,99) e C1 X C2 (0,97) indicando que os ciclos mantiveram o mesmo padrão de distância genética ao longo do processo de seleção. A análise SRAPs confirmou esses resultados (Tabela 5). Os valores próximos a um, encontrados para os dois marcadores mostram alto grau de similaridade genética entre ciclos.

Tabela 5 - Distância genética de Nei (1973) entre os três ciclos de seleção recorrente fenotípica em alcachofra, Passo Fundo - 2014

<b>Ciclos</b>	<b>DNei - SSRs</b>	<b>DNei - SRAPs</b>
C0 x C1	0,99	0,97
C0 x C2	0,99	0,94
C1 x C2	0,97	0,96

O padrão de distribuição da variabilidade genética foi obtido a partir de AMOVA e foi mensurado para os dois tipos de marcadores. Os resultados da análise com microssatélites revelaram que maior diversidade molecular (90%) foi encontrada dentro de cada ciclo de seleção, a porção desta variação entre ciclos foi de apenas

10% (Tabela 6). Para os SRAPs, também se observou maior variação dentro dos ciclos (85%) e menor entre ciclos (15%) corroborando com os resultados obtidos com SSRs (Tabela 6) e comprovando a similaridade entre ciclos observada pelo cálculo da distância de Nei (1973) e confirmando que a variabilidade dentro de cada ciclo foi mantida.

Tabela 6 - Análise de variância molecular (AMOVA) para marcadores SSRs e SRAPs em alcachofra, Passo Fundo, 2014

<b>Marcadores microssatélites - SSR</b>					
<b>Fontes de variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>%</b>	<b>F teste</b>
Entre ciclos	2	6,95	3,47	10	0,088
Dentro de cada ciclo	87	71,73	0,82	90	0,825
Total	89	78,68		100	0,913
<b>Marcadores SRAPs</b>					
<b>Fontes de variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>%</b>	<b>F teste</b>
Entre ciclos	2	121,48	60,74	15	1,69
Dentro de cada ciclo	87	849,73	9,76	85	9,76
Total	89	97,22		100	1,46

Em algumas populações de espécies alógamas, pode ser encontrada variabilidade intrapopulacional maior que a interpopulacional, fato observado neste estudo. Esse fato reduz a possibilidade de deriva genética e endogamia, contribuindo desta maneira para a manutenção da diversidade genética dentro das populações (AMBIEL et al., 2008).

Com base nos resultados obtidos as duas classes de marcadores foram eficientes na verificação das alterações na frequência de alelos e variabilidade genética ao longo do processo de seleção recorrente fenotípica em alcachofra. Porém, para a obtenção

de resultados mais robustos é necessário um estudo com número maior de marcadores, principalmente microssatélites

#### **4 CONCLUSÕES**

- a) Há alterações nas frequências alélicas ao longo das três gerações de seleção recorrente;
- b) Não ocorreu redução da variabilidade genética durante o processo seletivo realizado ao longo de três ciclos de seleção recorrente fenotípica em alcachofra.

## CAPÍTULO IV

### CONTEÚDO DE FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM UMA POPULAÇÃO DE ALCACHOFRA SUBMETIDA A TRÊS CICLOS DE SELEÇÃO RECORRENTE FENOTÍPICA

ANGÉLICA REOLON DA COSTA<sup>1</sup>

**RESUMO** – A alcachofra é considerada um alimento nutracêutico, devido suas propriedades nutricionais e medicinais. A cultura é rica em compostos promotores da saúde como fenólicos, os quais possuem capacidade antioxidante. O objetivo deste trabalho foi determinar a concentração de fenólicos totais e capacidade antioxidante numa população submetida a distintos ciclos de seleção recorrente fenotípica e verificar alterações nessas concentrações ao longo do processo seletivo. Para o desenvolvimento do estudo foram coletadas 20 folhas de diferentes plantas de alcachofra, em cada ciclo de seleção recorrente fenotípica (C0, C1 e C2) estas foram secas em temperatura ambiente (25 °C e 30 °C) e posteriormente trituradas. A preparação dos extratos foi realizada por infusão. A análise dos dois parâmetros foi feita em triplicata e os dados de absorbância das amostras comparados com uma curva padrão de ácido gálico. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro. A análise de variância revelou que há variação significativa entre ciclos quanto ao conteúdo de fenólicos totais e atividade

---

<sup>1</sup>Bióloga, Mestre em Agronomia, Doutoranda em Agronomia, Programa de Pós Graduação em Agronomia – Universidade de Passo Fundo.

antioxidante, indicando a influencia do melhoramento nas propriedades químicas das folhas de alcachofra. Quanto ao conteúdo de fenólicos totais, se observa redução linear com o avanço do processo de seleção recorrente fenotípica. O ciclo C0 (377,68 mg L<sup>-1</sup>) apresentou valores superiores ao ciclo C1 (292,81 mg L<sup>-1</sup>) que por sua vez foi melhor que o ciclo C2 (226,33 mg L<sup>-1</sup>). Para poder redutor ou capacidade antioxidante também houve redução ao longo dos ciclos, porém, o ciclo C0 diferiu significativamente somente do ciclo C2 de seleção recorrente, o qual obteve menor poder de redução 113,59 mg L<sup>-1</sup>. Portanto, o conteúdo de fenólicos totais e capacidade antioxidante da alcachofra reduziram ao longo dos três ciclos de seleção recorrente fenotípica e o esquema de melhoramento utilizado influenciou nas propriedades químicas das folhas, mesmo esses parâmetros não sendo objetos da seleção.

**Palavras chaves:** *Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori, nutracêutica, potencial medicinal.

**TOTAL FLAVONOIDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF  
AN ARTICHOKE POPULATION SUBMITTED TO THREE  
CYCLES OF PHENOTYPIC RECURRENT SELECTION**

**ABSTRAC** – Artichoke is considered a functional food due to its nutritional and medicinal properties. This crop is rich in healthy compounds such as phenols, which have antioxidant activity. The aim of this work was to determine total phenol and antioxidant activity in a population submitted to distinct cycles of phenotypic recurrent

selection and verifies modification in these concentrations during the selection processes. For this, 20 leaves of different plants, in each cycle of phenotypic recurrent selection (C0, C1 and C2), were dried in room temperature (25 and 30 °C) and grinded. The extracts were prepared by infusion. Both parameters were made in triplicates and absorbance values compared with a gallic acid calibration curve. The data were submitted to variance analysis (ANOVA) and means were compared by Tukey's test, 5% error probability. There were significant variation among the cycles in the total phenol content and antioxidant activity what indicates an improvement in the chemical properties of artichoke leaves. A linear reduction was observed in the total phenols content with the progress of the phenotypic recurrent selection. The cycle C0 (377,68 mg L<sup>-1</sup>) presented higher values than Cycle C1 (292,81 mg L<sup>-1</sup>) which in turn was better than cycle C2 (266,33 mg L<sup>-1</sup>). Reduction power, or antioxidant capacity, also reduced during the cycles, however, cycle C0 differ from cycle C2, which obtained lower reduction power 113,59 mg L<sup>-1</sup>. Therefore, artichoke total phenol content and antioxidant capacity reduced during the three cycles of the phenotypic recurrent selection and the improvement scheme used influenced on the leaves chemical properties, even these parameters not being objects of selection.

**Key words:** *Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori, medicinal potential, nutraceutical.

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente alimentos ricos em compostos promotores da saúde têm sido cada vez mais explorados pela indústria. A alcachofra é incluída entre esses, sendo considerada um alimento funcional pela Comissão Europeia de Alimentos Funcionais (FuFoSE) devido suas propriedades nutricionais e medicinais (LLORACH et al., 2002; LANTERI et al., 2012; MAURO et al., 2012).

A cultura é rica em polifenóis como derivados de ácido cafeoilquímico (SERGIO et al., 2008; PANDINO et al., 2011) e flavonóides, principalmente luteolina e antocianinas (LATTANZIO et al., 2002; LLORACH et al., 2002; SCHÜTZ et al., 2004; PANDINO et al., 2011), com altos níveis de polifenóis, comparada com outras hortícolas, a alcachofra é uma importante fonte de antioxidantes (LOMBARDO et al., 2010).

Os antioxidantes primários são os compostos fenólicos que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação através da doação de átomos de hidrogênio, interrompendo a reação em cadeia (MILANI et al., 2002). Na alcachofra, os compostos fenólicos podem ser encontrados nas folhas, nas brácteas e no receptáculo que são as partes comestíveis do capítulo.

Devido à presença das substâncias citadas acima a cultura exibe propriedades terapêuticas como: hepatoprotetora, anticarcinogênica, antioxidante, antimicrobiana, anti HIV, antifúngica, antiinflamatória e probiótica (LATTANZIO et al., 2009) atuando também no sistema urinário, na redução dos níveis de colesterol e utilizada no tratamento da arteriosclerose e como estimulante da flora

intestinal (MOGLIA et al., 2008; KÜÇÜKGERGIN et al., 2010). Devido a essas propriedades as folhas da alcachofra são usadas na preparação de chás caseiros e vendidas encapsuladas pela indústria farmacêutica.

Considerando os aspectos acima, avaliar o conteúdo de fenólicos e capacidade antioxidante numa população de alcachofra submetida ao melhoramento é importante, para verificar a influência do mesmo na concentração desses compostos, bem como identificar genótipos superiores que possam ser usados em esquemas de hibridação visando á melhoria das propriedades medicinais e nutricionais da espécie.

O objetivo deste trabalho foi determinar a concentração de fenólicos totais e capacidade antioxidante das folhas de alcachofra numa população submetida a distintos ciclos de seleção recorrente fenotípica e verificar alterações nessas concentrações ao longo do processo seletivo.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

O presente estudo foi conduzido no Laboratório de Ecofisiologia Vegetal da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo – Passo Fundo/RS – Brasil.

Foram coletadas aleatoriamente vinte folhas de diferentes plantas de alcachofra em cada ciclo de seleção recorrente fenotípica (C0, C1 e C2). Os quais foram estabelecidos no campo experimental da faculdade em abril de 2013 com delineamento em blocos casualizados com quatro repetições de nove plantas cada, sob as



mesmas condições ambientais. As folhas foram secas em temperatura ambiente. A temperatura média mínima e máxima durante o período de secagem (7 dias) foi de 25 °C e 30 °C, respectivamente.

O material vegetal seco de cada tratamento (C0, C1 e C2) foi macerado até a formação de um pó. A preparação dos extratos para a análise de fenólicos totais foi realizada por meio de infusão. Para tal foram pesadas, em tubos falcon, 0,1 g da amostra de cada tratamento e adicionado 10 mL de água destilada com temperatura de aproximadamente 90 °C. Essa mistura foi homogeneizada, deixada em repouso por 15 min, centrifugada por 5 min a 3000 rpm e posteriormente filtrada em algodão. As análises foram feitas imediatamente após as extrações.

A análise de fenólicos totais seguiu a metodologia colorimétrica de Folin-Ciocalteu descrita por Singleton et al. (1999). Uma alíquota de 125 mL da amostra foi misturada com 500 mL de água destilada e em seguida foi adicionado 125 mL de Folin-Ciocalteu. Após 6 minutos, 1,25 mL da solução aquosa de carbonato de sódio a 7% foram adicionados e completou-se o volume de 3 mL da reação com água destilada.

As soluções foram deixadas reagindo por 90 minutos. A leitura foi efetuada em espectrofotômetro SPECTRUM SP2000-UV em comprimento de onda de 760 nm. Como branco, ao invés das amostras foi utilizado água destilada. A análise foi feita em triplicata e os dados de absorbância das amostras foram comparados com uma curva padrão construídos a partir de soluções com concentrações crescentes de ácido gálico.

Para análise de poder redutor (capacidade antioxidante) utilizou-se 0,05 g do material vegetal diluídos em 25 mL de água para extração dos extratos, que seguiu a mesma metodologia descrita para fenólicos. O poder de redução foi avaliado pelo método colorimétrico descrito por Zhu et al. (2002). Para tanto, 250 µL do extrato foi misturado com 1,25 mL de tampão fosfato (pH=7) e 1,25 mL de ferricianato de potássio 1%. Esta mistura foi homogeneizada em vórtex, incubada por 20 min em banho-maria a 50 °C e posteriormente colocada em banho de gelo por 5 min a 4 °C.

Em seguida foram adicionados 1,25 mL de ácido tricloroacético 10% e as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 3.000 rpm. Recuperou-se 2,5 mL do sobrenadante e colocou-se 0,5 mL de cloreto de ferro III 0,1% no momento da leitura. A leitura foi realizada a 700 nm em espectrofotômetro SPECTRUM SP2000-UV. Como branco utilizou-se 250 µL de água no lugar da amostra. As análises foram feitas em triplica e os dados de absorbância das amostras foram comparados com uma curva padrão construídos a partir de soluções com concentrações crescentes de ácido gálico

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparação de média pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Houve variação significativa ( $p < 0,01$ ) entre ciclos quanto ao conteúdo de fenólicos totais nas folhas, tal fato indica a influencia do melhoramento nas propriedades químicas das folhas de alcachofra.

O mesmo se observa para a capacidade de antioxidante (Tabela 1). Foram encontrados Cvs de 4,09% e 15,23% para fenólicos totais e poder redutor respectivamente. A variação observada entre ciclos neste trabalho pode ser devida á diferenças genéticas entre esses, o que é reforçado pelo fato de que as plantas dos três ciclos (C0, C1 e C2) foram submetidas às mesmas condições ambientais e de cultivo.

Fратиanni et al. (2007), Lombardo et al. (2010) e Pandino et al. (2011) estudaram a variabilidade existente no conteúdo de fenólicos totais entre diferentes acessos de alcachofra e concluíram que essa diversidade é em grande parte, devido às diferenças genótípicas (MOGLIA et al., 2008; PANDINO ET AL., 2012).

Tabela 1 - Análise de variância entre os três ciclos avaliados para fenólicos totais e poder redutor (capacidade antioxidante) Passo Fundo - 2014

<b>Fenólicos totais</b>				
	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F teste</b>
Tratamentos	2	20302,01	1015,00	0,000*
Erro	6	976,86	162,81	
Cv	4.09			
<b>Poder redutor</b>				
	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
Tratamentos	2	4926,69	2468,34	0.005*
Erro	6	2984,03	497,33	
Cv	15.23			

Tem sido relatado que a variação no conteúdo de fenólicos e capacidade antioxidante em alcachofra é devido a diferenças genótípicas e de fatores abióticos, tais como condições edáficas, clima, radiação solar e nutrição mineral e ainda de acordo com as partes da plantas e estágio de desenvolvimento (LOMBARDO et al.,

2009; LOMBARDO et al., 2010; MOGLIA et al., 2010; PANDINO et al., 2011). Porém, sobre a influência dos processos de melhoramento genético nessa variação pouco se sabe. Com base nos resultados deste trabalho pode-se inferir que o esquema de seleção recorrente aplicado, além de modificar as frequências alélicas para caracteres de qualidade e produtividade de capítulo, como visto nos capítulos anteriores, também contribuiu para a alteração na concentração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante nas folhas da alcachofra ao longo dos ciclos de seleção, sem que esses parâmetros fossem objeto de seleção.

Quanto ao conteúdo de fenólicos totais, se observa redução linear com o avanço do processo de seleção recorrente fenotípica. O ciclo C0 apresentou valores superiores ( $377,68 \text{ mg L}^{-1}$ ) ao ciclo C1 ( $292,81 \text{ mg L}^{-1}$ ) que por sua vez foi melhor que o ciclo C2 ( $226,33 \text{ mg L}^{-1}$ ) (Figura 1).

Apesar de haver redução na concentração ao longo dos ciclos os valores de fenólicos totais encontrados são altos quando comparados com outras plantas com potencial nutracêutico (CECCARELLI et al., 2010) como: rúcula ( $126,84 \text{ mg L}^{-1}$ ), alface ( $108,72 \text{ mg L}^{-1}$ ) e almeirão ( $92,15 \text{ mg L}^{-1}$ ) (ARBOS et al., 2010). Nas folhas de alcachofra o conteúdo de fenólicos totais encontrado por outros autores foi de  $98 \text{ mg L}^{-1}$  (BLANCO et al., 2013),  $150 \text{ mg L}^{-1}$  (LOMBARDO et al., 2013),  $117 \text{ mg L}^{-1}$  (CRUZADO et al., 2013) menores que os observados neste trabalho, portanto, nessas gerações de seleção recorrente existem plantas com potencial medicinal que podem ser usadas em blocos de cruzamentos visando melhorar qualidade química das folhas.

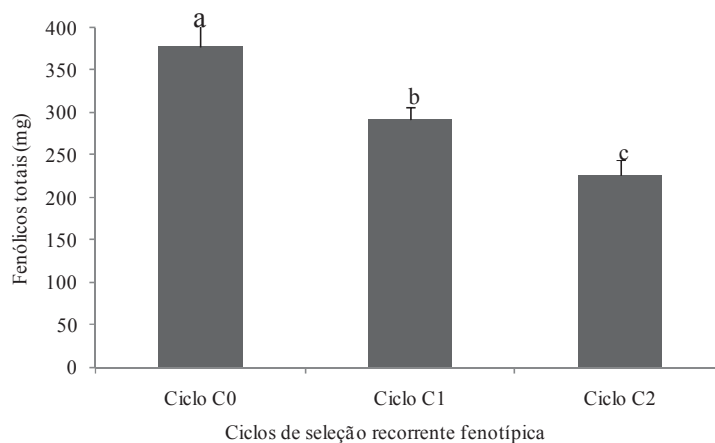


Figura 1 - Concentração de fenólicos totais em folhas de alcachofra obtidas de plantas em diferentes ciclos de seleção recorrente fenotípica, Passo Fundo - 2014.

Essa redução no conteúdo de fenólicos poder ser explicada pelo fato de que é difícil no melhoramento genético melhorar simultaneamente todos os aspectos da planta. Muitas vezes a pressão de seleção aplicada sobre determinado caráter pode influenciar outro. Esse fato é comum quando se trata de associar em uma variedade, características externas de qualidade, como no caso da alcachofra, formato, cor e espinhosidade, com outras relacionadas à qualidade medicinal e nutricional da mesma.

Importante destacar que a pressão de seleção aplicada sobre a população avaliada, em cada um dos ciclos de seleção recorrente (C0, C1 e C2) foi somente sobre caracteres do capítulo, enquanto que, a avaliação de compostos fenólicos e poder redutor foram realizados nas folhas. A avaliação desses parâmetros nos

capítulos não foi possível porque as plantas passaram por períodos de estresses ambientais (seca e geada) e não entraram em produção.

A análise das folhas se justifica porque essas são descartadas após a colheita dos capítulos, mas devido, a presença de grande quantidade de compostos promotores da saúde, podem ser utilizadas na preparação de extratos pela indústria farmacêutica, representando mais produto de valor agregado a ser explorado pelos produtores.

Compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundários das plantas, sabe-se que a concentração desses compostos pode aumentar ou diminuir em decorrência de estresses ambientais, como um mecanismo de defesa da planta, portanto, o fato das plantas terem passado por períodos de seca e geada, pode ter influenciado nas concentrações observadas em cada ciclo.

O teor de fenólicos totais também tem sido avaliado em outras partes da alcachofra, como haste floral, receptáculo e brácteas. Gil-Izquierdo et al. (2002) avaliaram o conteúdo de fenólicos nas brácteas internas e externas da alcachofra e obtiveram valor de 618 e 74 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente. É importante em um futuro trabalho avaliar também essas concentrações em nível de capítulo na população avaliada neste estudo.

O poder de redução mensura a capacidade antioxidante dos extratos de plantas. Esse método é baseado na habilidade do composto antioxidante reduzir ferro (BENZIE & STRAIN, 1996). Os antioxidantes primários são os compostos fenólicos que promovem a remoção ou inativação de radicais livres, protegendo os sistemas biológicos contra efeitos potencialmente danosos (SOARES, 2002).

O redutor ou capacidade antioxidante se manteve constante entre nos dois primeiros ciclos de seleção recorrente (C0 e C1) sendo observados valores em torno de  $160 \text{ mg L}^{-1}$ . No entanto houve redução significativa no ciclo C2 o qual tem um poder redução de  $113,59 \text{ mg L}^{-1}$  (Figura 2).

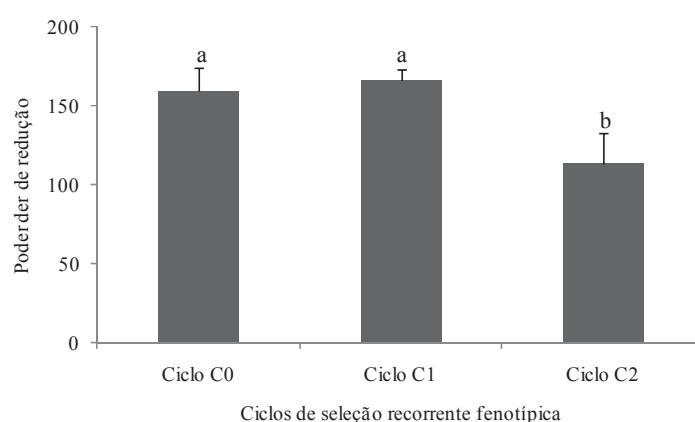


Figura 2 - Poder de redução em folhas de alcachofra obtidas de plantas em diferentes ciclos de seleção recorrente fenotípica, Passo Fundo - 2014.

Varição na capacidade antioxidante de extratos de folha de alcachofra também foi observada por Lombardo et al. (2013) que encontraram valores entre  $85$  e  $86 \text{ mg L}^{-1}$ . Pandino et al. (2012) também avaliaram a capacidade antioxidante na haste floral e em folhas de alcachofra e obtiveram valores de  $90$  e  $120 \text{ mg L}^{-1}$  respectivamente. Esses valores são semelhantes aos deste trabalho, indicando que as folhas de alcachofra dessa população podem ser usadas pela indústria farmacêutica da fabricação de medicamentos fitoterápicos.

Entre as hortaliças se destacam por sua capacidade antioxidante o espinafre ( $96 \text{ mg L}^{-1}$ ), cenoura ( $78 \text{ mg L}^{-1}$ ), couve ( $70 \text{ mg L}^{-1}$ ) (MELO et al., 2009) e cebola ( $60 \text{ mg L}^{-1}$ ) (MELO et al., 2006). Os valores encontrados entre as plantas dos dois primeiros ciclos de seleção recorrente são mais altos que os observado nos trabalhos citados acima, comprovando o potencial da alcachofra como nutraceutica.

Considerando os resultados descritos o conteúdo de fenólicos e a atividade antioxidante de alcachofra é influenciada pelos métodos de melhoramento sendo genótipo-dependente. Tornando possível sua manipulação em programas de melhoramento específicos, que visem o aumento da concentração de compostos promotores da saúde na espécie (LOMBARDO, et al., 2012).

Por outro lado, os polifenóis têm efeitos indesejáveis sobre os atributos sensoriais do alimento, devido ao processo de oxidação (SHAHIDI, 1997). Sendo adequados para a transformação industrial, baixos teores de polifenóis, pois reduz a incidência do escurecimento provocado pela oxidação (LATTANZIO et al., 1994; PANDINO et al., 2012). Dentro deste contexto, numa variedade de alcachofra destinada ao consumo *in natura*, logrando-se também, o aproveitamento das folhas para uso medicinal, seria adequado buscar altos valores desses compostos nas folhas e baixos nos capítulos. Portanto para um próximo ano é necessário também a avaliação do nível desses compostos em nível de capítulos.



#### **4 CONCLUSÕES**

- a) O conteúdo de fenólicos totais e capacidade antioxidante da alcachofra apresentam a tendência de reduzir ao longo dos três ciclos de seleção recorrente fenotípica;
- b) Há influência do esquema de melhoramento utilizado nas propriedades químicas da parte vegetativa de plantas pertencentes a três ciclos de seleção recorrente fenotípica.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para que a população de alcachofra melhorada, obtida neste trabalho possa ser utilizada em nível comercial como uma variedade de polinização aberta, é necessário, que essa tenha a uniformidade e estabilidade exigida pelo mercado e pelo MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) para fins de registros. Portanto se faz necessário a condução de mais ciclos de seleção recorrente fenotípica, até que se alcancem os parâmetros desejados.

Outro aspecto importante diz respeito ao cálculo dos ganhos genéticos, neste trabalho obteve uma estimativa dos mesmos considerando que os três ciclos de seleção recorrente fenotípica foram avaliadas em anos diferentes. Para a obtenção do ganho genético real obtido pelo esquema de seleção aplicado, é preciso a condução de um novo experimento, onde as três gerações sejam submetidas às mesmas condições ambientais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACQUADRO, A.; LANTERI, S.; SCAGLIONE, D.; ARENS, P.; VOSMAN, B.; PORTIS, S. Genetic mapping and annotation of genomic microsatellites isolated from globe artichoke. *Theoretical and Applied Genetics*, Italy, v. 118, n. 1, p. 1573-1587, 2009.

ACQUADRO, A.; PORTIS, E.; ALBERTINI, E.; LANTERI, S. M-AFLP-based protocol for microsatellite loci isolation in *Cynara cardunculus* L. (Asteraceae). *Molecular Ecology Notes*, Canada, v. 5, n. 1, p. 272-274, 2005a.

ACQUADRO, A.; PORTIS, E.; LANTERI, S. Isolation of microsatellite loci in artichoke (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus*). *Molecular Ecology*, Canada, v. 3, n. 1, p. 37-39, 2003.

ACQUADRO, A.; PORTIS, E.; LEE, D.; DONINI, P.; LANTERI, S. Development and characterization of microsatellite markers in *Cynara cardunculus* L. *Genome*, Canada, v. 48, n. 1, p. 217-225, 2005b.

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

ARAÚJO, A. M. Paternidade e diversidade genética em caprinos no Brasil por meio de microssatélites de DNA. 2004. 104 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

ARBOS, K. A.; FREITAS, R. J. S.; STERTZ, S. C.; DORNAS, M. F. Atividade antioxidante e teor de fenólicos totais em hortaliças orgânicas e convencionais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 30, n. 2, p. 501-506, 2010.

ASPPELLI, P. D.; CRAVERO, V. P.; COINTRY, E. L. Evaluation of the variability present in a population of clones of artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Revista de Investigación de la Facultad de Ciencias Agrárias*, Rosario, v. 1, n.1, p. 27-38, 2001.

ASPRELLI, P. *Determinación de la variancia genética para caracteres vegetativos y productivo en una población de clones de alcaucil (Cynara scolymus L.) y análisis de componentes principales y de agrupamientos*. 2000. 74 f. Tesina de graduación (Licenciado em Genética) - Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones, Misiones, 2000.

AUBERT, S. Influence de la couleur des aliments et boissons sur acceptabilité: Quelques exemples. *Diétét*, França, v. 11, n. 1, p. 15-30, 1976.

AUGUSTIN, L.; GRANDO, M. F.; SUZIN, M.; PIVA, M.; DONIDA, B.; FLOSS, E. L. Micropropagação de uma cultivar de alcachofra para uso industrial. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 46, 2006. *Anais...Goiânia*: Associação Brasileira de Horticultura, 2006. p. 1-4.

AUGUSTIN, L.; PIVA, M.; SUZIN, M.; PIVA, M.; GRANDO, M. F.; DONIDA, B.; FLOSS, E. L. Micropropagação de alcachofra através de ápices caulinares. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 3, 2005. *Anais...Gramado*: Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 2005. p. 20.

AYALA, C. J.; LÓPEZ, R. G.; ESPINOZA, V. A. *Un aspecto clave en la producción propagación de alcachofas*. Argentina: Instituto de Investigaciones Agropecuarias, 2011 (Boletim técnico, 222).

BAGGET, J. R.; MACK, H. J.; KEAN, D. Annual culture of globe artichoke from seed. *HortScience*, Orlando, v. 17, n.1, p. 766-768. 1982.

BAGGIO, M. I.; PALLA F.; BOSCARDIN, D. S.; MANTOVANI, N.; GRANDO, M. F.; AUGUSTIN, L.; SUZIN, M.; DONIDA, B. Floral biology of artichoke (*Cynara scolymus* L.) Nobre-UPF brazilian cultivar. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE ALCACHOFRA, 7, 2011. *Anais...França*, 2009. p. 36.

BARROS, E. A. *Estrutura populacional e variabilidade genética do núcleo de conservação da raça marota no Piauí*. 2009. 63 f.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.

BARBIERI, G. Multiplicación por semillas. *Actas 1º Jornadas Técnicas de Alcachofa*. Tudela - Navarra. (ITGA ed.), v.1, p.107-113, 1996.

BASNIZKI, J.; ZOHARY, D. Breeding of seed planted artichoke. *Breeding reviews*, Italy, v. 12, n. 1, p. 253-269, 2010.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, Toronto, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.

BIANCO, C. L.; FERNANDEZ, J. A.; MIGLIARO, D.; CRINO, P.; GILABERT, C. E. Identification of F1 hybrids of artichoke by ISSR markers and morphological analysis. *Molecular Breeding*, Espanha, v. 27, n. 1, p. 157-170, 2011.

BLANCO, E.; DE PAOLA, D.; PIGNONE, D.; SONNANTE, G. Polyphenolic compounds in artichoke cultivars and regulation of their synthesis in artichoke. *Acta Horticulturae*, Estados Unidos, v. 983, n. 1, p. 75-80, 2013.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. *Melhoramento de Plantas*. 5. ed. Viçosa. Editora: UFV, 2009. 529 p.

BOSCARDIN, D.; PALLA, F.; GRANDO, M. F.; SUZIN, M.; GIROTTI, L.; AUGUSTIN, L.; DONIDA, B. Micropropagação da cultivar de alcachofra, do alto Uruguai gaúcho, COT 2001: ajuste de protocolo. In: CONGRESO NACIONAL DE HORTIFRUTICULTURA, 11; CONGRESO PANAMERICANO PROMOCIÓN DEL CONSUMO DE FRUTAS Y HORTALIZAS, 3; CONGRESO NACIONAL DE HORTIFRUTICULTURA, 11; CONGRESO PANAMERICANO PROMOCIÓN DEL CONSUMO DE FRUTAS Y HORTALIZAS, 3. 2007. *Anais...* Montevideo, 2007. p. 12.

BRATSCH, A. Specialty crop profile: Globe artichoke. *Vegetables and Small Fruits*, Flórida, v. 1, n. 1, p. 438-108, 2009.

BUENO, L. C. S.; MENDES, A. N. G.; CARVALHO, S. P. *Melhoramento genético de plantas*. 1 ed. Lavras. Editora: UFLA, 2001. 282 p.

CARVALHO, C. G. P.; ALMEIDA, C. M. V. C.; CRUZ, C. D.; MACHADO, P. F. R. Hybrid cocoa tree adaptability and yield temporal stability in Rondônia State, Brazil. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, Viçosa, v. 3, n.1, p. 237-244, 2003.

CASADEVALL, R.; MARTIN, E.; CRAVERO, V. Simple sequence repeat (SSR) vs. sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers for *Cynara cardunculus* characterization. *Spanish Journal of Agricultural Research*, Espanha, v. 9, n. 2, p. 453-459, 2011.

CASANOVA, C. F.; AUGUSTIN, L.; GRANDO, M. F.; SUZIN, M. Cultivo in vitro de alcachofra (*Cynara scolymus* L.). In: CADERNO DE PESQUISA, 6, 2007, Passo Fundo. *Anais...Passo Fundo – UPF*, 2007. p. 65.

CECCARELLI, N.; CURADI, M.; PICCIARELLI, P.; MARTELLONI, L.; SBRANA, C.; GIOVANNETTI, M. Globe artichoke as a functional food. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, Itália, v. 3, n. 1, p. 197-201, 2010.

COINTRY, E. L. *Evaluación de caracteres cualitativos y cuantitativos en Cynara scolymus L. y su utilización en el mejoramiento de la especie*. 2001. 133 f. Tese doctoral (Doctorado em Ciências Agrarias). Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Rosario, Rosario, 2001.

COINTRY, E. L.; LÓPEZ ANIDO, F. S.; GARCÍA, S. M.; FIRPO, I. T. Mejoramiento genético del alcaucil (*Cynara scolymus* L.). *Avances en Horticultura*, Argentina, v. 4, n. 1, p. 51-60, 1999.

COMIN, R. C.; GIROTTO, L.; SUZIN, M.; GRANDO, M. F.; AUGUSTIN, L.; DONIDA, B.; BAGGIO, M. I. Ajuste de metodología para aclimatização de plântulas alcachofra micropropagadas in vitro. In: XVII MOSTRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO, 17, 2007, Passo Fundo. *Anais... Passo Fundo - UPF*, 2007. p. 1-4.

CRAVERO, V. P. *Evaluación de familias S1 de alcaucil (Cynara scolymus L.) y empleo de técnicas de análisis multivariado para caracterización y selección.* 2001. 80 f. Tese del maestría (Maestría en genética). Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Rosario, Rosario, 2001.

CRAVERO, V. P.; COINTRY, E. L.; LÓPEZ ANIDO, F. S.; ASPRELLI P, D.; GARCIA, S. M. Efecto de una generación de selección sobre caracteres productivos en una población de alcachofa. *Ciencia e Investigación Agraria*, Rosario, v. 30, n. 1, p. 51-56, 2003.

CRAVERO, V. P.; LOPEZ ANIDO, F. S.; ASPRELLI, P. D.; COINTRY, E. L. Diallel analysis for traits of economic importance in globe artichoke (*Cynara scolymus*). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, Nova Zelândia, v. 32, n. 2, p. 159-165, 2004.

CRAVERO, V. P.; LÓPEZ ANIDO, F. S.; ESPÓSITO, M. A.; COINTRY, E. Mejoramiento convencional y no convencional de especies hortícolas. *Journal of Basic & Applied Genetics*, Argentina, v. 22, n. 1, p. 1-4, 2011.

CRAVERO, V. P.; MARTÍN, E.; COINTRY, E. L. Genetic diversity in *Cynara cardunculus* determined by SRAP markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Estados Unidos, v. 132, n. 2, p. 208-212. 2007.

CRAVERO, V. P.; PICARDI, L. A.; COINTRY, E. L. An approach for understanding the heredity of two quality traits (head color and tightness) in globe artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Genetic and Molecular Biology*, Brasília v. 28, n. 3, p. 431-434, 2005.

CRAVERO, V.; COINTRY, E. L.; LOPEZ ANIDO, F. S.; ASPRELLI, P. D.; GARCIA, E. M. Efecto de una generacion de seleccion sobre caracteres productivos en una poblacion de alcachofa (*Cynara scolymus*). *Ciencia y Investigación Agraria*, Rosario, v. 30, n. 1, p. 51-56, 2009.

CRINO, P.; TAVAZZA, R.; MUNOZ, N. R.; NISINI, P. T.; SACCARDO, F.; ANCORA, G.; PAGNOTTA, M. A. Recovery,

morphological and molecular characterization of globe artichoke 'Romanesco' landraces. *Genetic Resources and Crop Evolution*, Londres, v. 55, n. 1, p. 823-833, 2008.

CRIPPA, I.; MARTÍN, E. A.; ESPÓSITO, M. A.; CRAVERO, V. P.; LÓPEZ ANIDO, F.; COINTRY, E. L. Correlation and path-coefficient analysis in half sib families of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* (L.) Fiori). *Electronic Journal of Plant Breeding*, Índia, v. 2, n. 1, p. 151-156, 2011.

CRUZADO, M.; PASTOR, A.; CASTRO, N.; CEDRÓN, J. C. Determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de alcachofa (*Cynara scolymus* L.). *Revista de la Sociedad de Química del Perú*, Perú, v. 79, n. 1, p. 57-63, 2013.

DELLACECCA, V.; MARZI, V. Influenza della densità colturale e della scarducciatura sulla produzione e sulle caratteristiche qualitative dei capolini di carciofo. In: ATTI 2° CONGRESSO. INTERNATINAL DI STUDI SUL CARCIOFO, 2, 1976, Bari. *Anais...*Torino: Minerva Medica, 1976. p. 427-466.

DELLECECCA, V.; MAGNIFICO, V.; MARZI, V.; PORCEDU, E.; SCARASCIA MUGNOZZA, G. T. Contributo alla conoscenza delle varietà di carciofo coltivate nel mondo. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DI STUDI SUL CARCIOFO, 2., 1976. *Anais...*Bari: Minerva Medica, 1976. p. 199-316.

DONIDA, B. T. *Produção e qualidade de sementes da alcachofra*. 2004. 54 f. Tese de doutorado (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2004.

ESTEVA, J. Tendencias actuales de la mejora genética de la alcachofa. *Agrícola Vergel*, Argentina, v. 13, n. 208, p. 256-260, 1999.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. *Introduction to Quantitative Genetics*. 4. ed. Essex: Addison Wesley Longman Limited, 1996. 446 p.



FALEIRO, F. *Marcadores moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos*. 1 ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.

FERRARI, V.; VITTORI, G.; CRESCENTINI, P.; MAINENTI. Come aumentare la redditività della carciofaia. *L'Informare Agrario*, Itália, v. 38, n. 1, p. 56-60, 2001.

FERREIRA, M. A. J. F.; QUEIROZ, M. A.; BRAZ, L. T.; VENCOVSKY, R. 2003. Correlações genotípicas, fenotípicas e de ambiente entre dez caracteres de melancia e suas implicações para o melhoramento genético. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 21, n.1, p. 438-441, 2003.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. *Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética*. 1 ed. Brasília: Cenargem/EMBRAPA, 1995, 230 p.

FERRIOL, M.; PICÓ, B.; NUEZ, F. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlim, v. 107, n. 2, p. 271-282, 2003.

FILHO, W. P. D.; CAMARGO, A. M. M. P. D.; CAMARGO, F. P. Mercado de alcachofra no estado de São Paulo e viabilidade da produção orgânica. *Informações Econômicas*, São Paulo, v. 39, n. 4, p. 70-75, 2009.

FOTI, S. E.; MAUROMICALE, G. Sul miglioramento Del calendario di produzione Del carciofo e delle caratteristiche di qualita del prodotto mediante la diffusione di nuove varietà. *Semente elette*, Itália, v. 40, n. 1, p. 19-29, 1994.

FOURY, C. Study floral biology of artichoke (*Cynara scolymus* L.). Application in the selection. 1<sup>o</sup> partie : *Donnés sur la biologie florale*. *Amélior Plantes*, Itália, v. 17, n. 1, p. 357-373, 1967.

FOURY, C.; MOULIN, J. C.; MARTIN, F. Possibilités d'utilisation de la gibbéréline pour hater la récolte d'artichaut en regions

méridionales. PHM - *Revue Horticole*, Itália, v. 234, n. 11, p. 49-54, 1983.

FRATIANNI, F.; TUCCI, M.; PALMA, M.; PEPE, R.; NAZZARO, F. Polyphenolic composition in different parts of some cultivars of globe artichoke (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori). *Food Chemistry*, Londres, v. 104, n. 3, p. 1282-1286, 2007.

GAMAYO, J. D.; AGUILAR, A.; PARRA, J. Alcachofa multiplicada por semilla. *Horticultura internacional*, Espanha, v. 48, n. 1, p. 20-25, 2005.

GIL-IZQUIERDO, A.; GIL, M. I.; CONESA, M. A.; FERRERES, F. The effects of storage temperatures on vitamin C and phenolic content of artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, Netherlands, v. 2, n. 1, p. 199-202, 2002.

GÓMEZ, A. M. Cultivo de la alcachofa de semilla. *Agraria*, Argentina, v.1, n. 1, p. 43-47, 1996.

GOMINHO, J.; FERNANDEZ, J.; PEREIRA, H. *Cynara cardunculus* L, a new fibre crop for pulp and paper production. *Industrial Crops Products*, Estados Unidos, v. 13, n. 1, p. 1-10, 2001.

GOÑI, I.; JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; GUDIÉL, M.; SAURACALIXTO, F. D. Artichoke (*Cynara scolymus* L) modifies bacterial enzymatic activities and antioxidant status in rat cecum. *Nutrition Research*, California, v. 25, n. 6, p. 607-615, 2005.

GONZALES, J.; PEREZ, F.; FERNANDEZ, J.; LEZAUN, J. A.; RODRIGUEZ, D.; PEREA, F.; ROMERO, C.; OCHOA, M. J.; GARCIA, M. Study of *Cynara cardunculus* L. lignocellulosic biomass production in dry conditions. *Acta Horticulturae*, Belgica. v. 660, n. 1, p. 221-227, 2004.

GRANDO, M. F.; AUGUSTIN, L.; SUZIN, M.; CALVETE, E. O.; COMIN, R. C.; REOLON-COSTA, A.; MORLIN, B.; DONIDA, B. Micropropagation of globe artichoke 'Nobre-UPF', a brazilian cultivar

used for industrial purpose. *Acta Horticulturae*, Bélgica, v. 923, n. 1, p. 147-154, 2011.

HALLAUER, A. R.; RUSSELL, W. A.; LAMKEY, K. R. Corn Breeding. *American Society of Agronomy*, Guilford, v. 3, n. 18, p. 145-150, 1988.

IERNA, A.; MAUROMICALE, G. *Cynara cardunculus* L. genotypes as a crop for energy purposes in a Mediterranean environment. *Biomass and bioenergy*, Estados Unidos, v. 34, n. 5, p. 754-760, 2010.

YONG-JIN PARK; LEE, J. K.; KIM, N. Simple sequence repeat polymorphisms (SSRPs) for evaluation of molecular diversity and germplasm classification of minor crops. *Molecules*, Estados Unidos, v. 14, n. 11, p. 4546-4569, 2009.

KHALDI, S., KHELI, I., GAZZAH, M. Analysis of genetic variability in six Tunisian wild cardoon (*Cynara cardunculus* L. subsp. *flavescens*) populations. *Genetic Resources And Crop Evolution*, Nova Zelândia, Ed. online, 2012. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/>>. Acesso em 4 set. 2013.

KÜÇÜKGERGIN, C.; FATIHA AYDIN, A.; ÖZDEMIRLER-ERATA, G.; MEHMETÇIK, G.; KOÇAK-TOKER, N.; UYSAL, M. Effect of artichoke leaf extract on hepatic and cardiac oxidative stress in rats fed on high cholesterol diet. *Biological Trace Element Research*, Estados Unidos, v. 135, n. 1 p. 264-274, 2010.

KUINCHTNER, A.; BURIAL, G. A. Clima do estado do Rio Grande do Sul segundo a classificação de Köppen e Thornthwaite. *Disciplinarum Scientia. Série Ciências Exatas*, Santa Maria, v. 2, n.1, p. 171-182, 2001.

LACERDA, C. M. B.; KAGEYAMA, P. Y. Estrutura genética de duas populações naturais de *Myracrodruon urundeuva* M. Allemão na Região Semi-árida. *Revista Árvore*, Viçosa, v. 27, n. 2, p. 145-150, 2003.

LANTERI, S., PORTIS, E. Globe artichoke and Cardoon. Vegetables I: Asteraceae, Brassicaceae, Chenopodiaceae and Cucurbitaceae.

*Handbook of Plant Breeding*, Estados Unidos, v. 1, n. 1, p. 49-74, 2008.

LANTERI, S.; ACQUADRO, A.; COMINO, C.; MAURO, R.; MAUROMICALE, G.; PORTI, E. A first linkage map of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.) based on AFLP, S-SAP, M-AFLP and microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlín, v. 112, n. 8, p. 1532-1542, 2006.

LANTERI, S.; ACQUADRO, A.; SABA, E.; PORTIS, E. Molecular fingerprinting and evaluation of genetic distances among selected clones of globe artichoke (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* L.). *Journal Horticulture and Science Biotechnology*, Reino Unido, v. 79, n. 6, p. 863-870, 2004.

LANTERI, S.; PORTIS, E.; ACQUADRO, A.; MAURO, R. P.; MAUROMICALE, G. Morphology and SSR fingerprinting of newly developed *Cynara cardunculus* genotypes exploitable as ornamentals. *Euphytica*, Wageningen, v. 184, n. 3, p. 311-321, 2012.

LANTERI, S.; PORTIS, P.; ACQUADRO, A.; MAURO, R.P.; MAUROMICALE, M. Morphology and SSR fingerprinting of newly developed *Cynara cardunculus* genotypes exploitable as ornamentals. *Euphytica*, Wageningen, v. 184, n. 3, p. 311-321, 2011.

LANTERI, S.; PORTIS, E.; ACQUADRO, A.; MAURO, R.; MAUROMICALE, G. Morphology and SSR fingerprinting of newly developed *Cynara cardunculus* genotypes exploitable as ornamentals. *Euphytica*, Wageningen, v. 184, n. 3, p. 311-321, 2012.

LAPUERTA, M.; ARMAS, O.; BALLESTEROS, R.; FERNANDEZ, J. Diesel emissions from biofuels derived from Spanish potential vegetable oils. *Fuel*, Londres, v. 84, n. 6, p. 773-780, 2005.

LATTANZIO, V.; CARDINALI, A.; DI VENERE, D.; LINSALATA, V.; PALMIERI, S. Browning phenomena in stored artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads: Enzymic or chemical reactions? *Food Chemistry*, Washington, v. 50, n. 1, p. 1-7, 1994.

LATTANZIO, V.; CICCO, N.; TERZANO, R.; RACCUIA, S.; MAUROMICALE, G.; D.I VENERE, D.; LINSALATA, V. Potenziale utilizzo di sottoprodotti derivanti dalla lavorazione industriale Del carciofo: Antiossidanti di natura fenolica ed inulina. In: ATTI XIX CONVEGNO SICA. *Anais...* Reggio Calabria: Tipografia Iiriti. 2002. p. 251-258.

LATTANZIO, V.; CICCO, N.; TERZANO, R.; RACCUIA, S.; MAUROMICALE, G.; D.I VENERE, D.; LINSALATA, V. Potenziale utilizzo di sottoprodotti derivanti dalla lavorazione industriale del carciofo: Antiossidanti di natura fenolica ed inulina. IN: ATTI XIX CONVEGNO SICA, 12, 2002, Itália. *Anais...*2002. p. 251-258.

LATTANZIO, V.; KROON, P. A.; LINSALATA, V.; CARDINALI, A. Globe artichoke: a functional food and source of nutraceutical ingredients. *Journal Funcional Food*, New York, v. 1, n. 2, p. 131-144, 2009.

LI, G.; QUIROS, C. F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlim, v. 103, n. 3, p. 455-461, 2001.

LLORACH, R.; ESPIN, J. C.; TOMAS-BARBERAN, F. A.; FERRERES, F. Artichoke (*Cynara scolymus* L.) byproducts as a potential source of health-promoting antioxidant phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Califórnia, v. 50, n. 12, p. 3458-3464, 2002.

LOMBARDO, S.; PANDINO, G.; MAURO, R.; MAUROMICALE, G. Variation of phenolic content in globe artichoke in relation to biological, technical and environmental factors. *Italian Journal of Agronomy*, Itália, v. 4, n. 1, p. 181-189, 2009.

LOMBARDO, S.; PANDINO, G.; MAUROMICALE, G. Total polyphenolic content and antioxidant activity among clones of two Sicilian artichoke landraces. *Acta Horticulturae*, Estados Unidos, v. 1, n. 983, p. 95-99, 2013.

LOMBARDO, S.; PANDINO, G.; MAUROMICALE, G.; KNODLER, M.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. Influence of genotype, harvest time and plant part on polyphenolic composition of globe artichoke [*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori]. *Food Chemistry*, Washington, v. 119, n. 3, p. 1175-81, 2010.

LOMBARDO, S.; PANDINO, G.; IERNA, A.; MAUROMICALE, G. Variation of polyphenolic in a germoplasma collection of globe artichoke. *Food Research International*, Amsterdam, v. 46, n. 2, p. 544-551, 2012.

LÓPEZ ANIDO, F. S.; FIRPO, I. T.; GARCÍA, S. M.; COINTRY, E. L. Estimation of genetic parameters for yield traits in globe artichoke. *Euphytica*, Wageningen, v.103, n. 1, p. 61-66, 1998.

MACUA GONZÁLES, J. I.; ARCE TUDANCA, P. *Multiplificación vegetativa y selección clonal in alcachofra*. Navarra: Instituto Técnico y de Gestión Agrícola S. A, 1996. (Boletim Técnico, 1).

MARTIN, E.; CRAVERO, V.; ESPÓSITO, A.; ANIDO, L. F.; MILANESI, L.; COINTRY, L. H. Identification of markers linked to agronomic traits in globe artichoke. *Australian Journal of Crop Science*, Austrália, v. 1, n. 2, p. 43-46, 2008.

MARTIN, E.; CRAVERO, V.; LIBERATTI, D.; ESPÓSITO, A.; ANIDO, F. L.; COINTRY, E. Response of productive and morphovegetative traits of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*) to mass selection and estimation of their heritability. *Chilean Journal of Agricultural Research*, Chile, v. 70, n. 2, p. 199-203, 2010.

MARTIN, E.; CRAVERO, V.; PORTIS, E.; SCAGLIONE, D.; ACQUAVIVA, E.; COINTRY, E. New genetic maps for globe artichoke and wild cardoon and their alignment with an SSR-based consensus map. *Molecular Breeding*, Dordrecht, v. 32, n. 1, p. 177-187, 2013.

MATUS, A.; HAYES P. M. Genetic diversity in three groups of barley germplasm assessed by simple sequence repeats. *Genome*, Canadá, v. 45, n. 6, p. 1095-1106, 2002.

MAURO, R.; LOMBARDO, S.; LONGO, A. M. G.; PANDINO, G.; MAUROMICALE, G. New cropping designs of globe artichoke for industrial use. *Italian Journal of Agronomy*, Itália, v. 6, n. 8 p. 44-49, 2011.

MAURO, R.; PORTIS, E. E.; ACQUADRO, A.; LOMBARDO, S.; MAUROMICALE, G.; LANTERI, S. Genetic diversity of globe artichoke landraces from Sicilian sallow-holdings: implications for evolution en domestication. *Conservation Genetics*, Dordrecht, v. 10, n. 2, p. 431-440, 2009.

MAURO, R.; PORTIS, E.; LANTERI, S.; MAUROMICALE, G. Genotypic and bio-agronomical characterization of an early Sicilian landrace of globe artichoke. *Euphytica*, Wageningen, v. 186, n. 2, p. 357-366, 2012.

MAUROMICALE, G.; COPANE. Caratteristiche biologiche e produzione di cloni diversi di carciofo isolati in popolazioni siciliane di "Violetto di Silicia". *Técnica Agrícola*, Itália, v.4, n. 1, p. 1-17, 1989.

MAUROMICALE, G.; IERNA, A. Speciale carciofo. Le attuali conoscenze: Panorama varietale e miglioramento genetico del carciofo. *L'Informatore Agrário*, Itália, v. 26, n. 1, p. 39-45, 2000.

McMANUS, C.; PAIVA, S.; CORRÊA, P. S.; SEIXAS, L.; MELO, C. B. *Estatísticas para descrever genética de populações*. Brasília. Disponível em: <Htt.www.animal.unb.br>. Acesso em 10 janeiro 2011.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. *Ciência Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 26, n. 3, p. 639-644, 2006.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; SANTANA, A. P. M. Antioxidant capacity of vegetables submitted to thermal

treatment. *Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentos e Nutrição*, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 85-95, 2009.

MELO, P. C. T. Genetic improvement of vegetables: development of open-pollinated cultivars. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, Viçosa, v.1, n. 1, p. 93-94, 2001.

MENEZES, M. P. C. *Variabilidade e relações genéticas entre raças caprinas nativas brasileiras, ibéricas e canárias*. 2005. 110 f. Tese (Doutorado em Produção Animal). Universidade Federal da Paraíba, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Universidade Federal do Ceará, Areia, 2005.

MICCOLIS, V.; BIANCO, V. V.; ELIA, A.; PERRINO, P.; VOLPE, N. Valutazione della collezione Mediterranea di carciofo allevata nella valle dell' Ofanto. *L'Informatore Agrario*, Itália, v. 45, n. 1, p. 35-41, 1999.

MILANI, L. I. G.; TERRA, N. N.; FRIE, L. C. M.; CICHOSKIA, J.; REZEA, A. P. S.; BACKES, A. N.; PARODIA, C. G. Atividade antioxidante e antimicrobiana in vitro de extratos de caqui (*Diospyros kaki* L.) cultivar Rama Forte. *Brazilian Journal of Food Technology*, Brasília, v. 115, n. 2, p. 118-124, 2002.

MILANI, L. I. G.; LIMA, V. L. A. G.; FREITAS, R. J. S. Inibição natural da oxidação lipídica na carne mecanicamente separada de frango. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS, 18, 2002. São Paulo. *Anais...* 2002. p. 18.

MOGLIA, A.; LANTERI, S.; COMINO, C.; ACQUADRO, A.; DE VOS, R.; BEEKWILDER, J. Stress-induced biosynthesis of dicaffeoylquinic acids in globe artichoke. *Journal Agriculture and Food Chemistry*, Califórnia, v. 56, n. 18, p. 8641-8649, 2008.

MOGLIA, A.; MINO, C.; LANTERI, A.; DE VOS, R.; WAARD, P.; VANBEEK, T.; GOITRE, L.; FRANCESCO RETTA, S. F.; BEEKWILDE, J. Production of novel antioxidative phenolic midestrough heterologous expression of the plant's chlorogenic acid



biosynthesis genes in yeast. *Metabolic Engineering*, Estados Unidos, v. 12, n. 1, p. 223-232, 2010.

MORAES, C. F.; SUZIN, M.; NIENOW, A. A.; GRANDO, M. F.; MANTOVANI, N.; CALVETE, E. O.; DONIDA, B. T. Germinação *in vitro* de sementes de alcachofra. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 28 n. 1, p. 1-6. 2010.

NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Stanford, v. 70, n. 12, p. 3321-3323, 1973.

OLIVEIRA, E. J.; PÁDUA, J. G.; ZUCCHI, M. I.; CAMARGO, L. E. A.; FUNGARO, M. H. P.; VIEIRA, M. L. C. Development and characterization of microsatellite markers from the yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). *Molecular Ecology Notes*, Oxford, v.5, n. 2, p. 331-333, 2008.

OLIVEIRA, J. C. V. *Diversidade genética em caprinos*. 2007. 104f. Tese (Doutorado em Produção Animal). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2007.

PANDINO, G.; COURTS, F.; LOMBARDO, S.; MAUROMICALE, E.; G, WILLIAMSON, G. Caffeoylquinic acids and flavonoids in the immature inflorescence of globe artichoke, wild cardoon, and cultivated cardoon. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, Califórnia, v. 58, n. 1, p. 1026-1031, 2010.

PANDINO, G.; LOMBARDO, S.; MAUROMICALE, G. Chemical and morphological characteristics of new clones and commercial varieties of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*). *Plant Foods Human Nutrition*, México, v. 66, n. 3, p. 291-297, 2011.

PANDINO, G.; LOMBARDO, S.; MAURO, R.; MAUROMICALE, G. Variation in polyphenolic profile and head morphology among clones of globe artichoke selected from a landrace. *Scientia Horticulturae*, Canadá, v. 138, n. 1, p. 259-265, 2012.

PAPALINI, P.; ZUCCHERELLI, G. Genetic improvement of artichoke: Preliminary results. *Acta Horticulturae*, Estados Unidos, v. 681, n. 1, p. 343- 346, 2005.

PECAUT, P.; FOURY, C. L'artichaut. In: GALLAIS, A.; BANNEROT, H. *Amelioration des espèces cultivées*. 1<sup>a</sup> ed. Paris: INRA editora, 1992. p. 460-470.

PIGNONE, D.; SONNANTE, G. Wild artichokes of south Italy: did the story begin here? *Genetic Resources and Crop Evolution*, Alemanha, v. 51, n. 6, p.577-580, 2004.

PINTO, R. J. B. *Introdução ao melhoramento genético de plantas*. 1 ed. Maringá. Editora: EDUEM, 1995. 186 p.

PORCEDU, E. DELLACECCA, V.; BIANCO, V.V. Classificazione numerica di cultivar di carciofo. In: CONGRESSO INTERNAZIONALE DI STUDI SUL CARCIOFO, 2., 1976. Bari. Ed. Minerva medica, Torino, 1976, p. 1105-1119.

PORTIS, E.; ACQUADRO, A.; COMINO, C.; MAUROMICALE, G.; SABA, E.; LANTERI, S. Genetic structure of island populations of wild cardoon [*Cynara cardunculus* L. var. *sylvestris* (Lamk) Fiori] detected by AFLPs and SSRs. *Plant Science*, Califórnia, v. 169, n. 1, p. 199-210, 2005b.

PORTIS, E.; BARCHI, L.; ACQUADRO, A.; MACUA, J.; LANTERI, S. Genetic diversity assessment in cultivated cardoon by AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) and microsatellite markers. *Plant Breeding*, Strongsville, v. 124, n. 3, p. 299-304, 2005a.

PORTIS, E.; MAUROMICALE, G.; BARCHI, L.; MAURO, R.; LANTERI, S. Population structure and genetic variation in autochthonous globe artichoke germplasm from Sicily Island. *Plant Science*, Califórnia, v. 168, n. 6, p. 1591-1598, 2005c.

PORTIS, E.; MAUROMICALE, G.; MAURO, R.; ACQUADRO, A.; SCAGLIONE, D.; LANTERI, S. Construction of a reference molecular linkage map of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var.

*scolymus*). *Theoretical Applied Genetics*, Berlim, v. 120, n. 1, p. 59-70, 2009.

RACCUIA, S. A.; MELILLI, M. G. Biomass and grain oil yields in *Cynara cardunculus* L. genotypes grown in a Mediterranean environment. *Field Crops Research*, Alemanha, v. 101, n. 2, p. 187-197, 2007.

RAJEEV- K. VARSHNEY.; GRANER, A.; SORRELLS, E. Feeding the world: Plant biotechnology milestones genomics-assisted breeding for crop improvement. *Trends in Plant*, Dublin, v. 10, n. 12, p. 621-630, 2005.

REOLON-COSTA, A., GRANDO, M. F., SCHEFFER-BASSO, S. M., CRAVERO, V. P. Morphophysiological characterization in artichoke accessions aimed at selecting materials for *in natura* consumption. *Acta Scientiarum Agronomy*, Maringá, v. 43, n. 4, p. 431-437, 2012.

REOLON-COSTA, A.; MORLIN, B.; SARTORI, G.; SUZIN, M.; AUGUSTIN, L.; DONIDA, B.; CALVETE, E. O.; GRANDO, M. F. Correlation between characters of quality and productivity of artichoke for *in natura* consumption. *Acta Horticulturae*, Estados Unidos, v. 983, n. 1, p. 203-207, 2013.

ROCHA, L. L. *Estudo genético de populações caprinas locais e exóticas através de marcadores microssatélites*. 2009. 151f. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Universidade Federal da Paraíba, Universidade Federal do Ceará, Recife, 2009.

ROCHA, R. B.; RAMALHO, A. D.; JÚNIOR, J. R. V.; VIEIRA, H. A. Avaliação genética de características oligogênicas em programas de melhoramento de plantas. *Saber Científico*, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 267-277, 2008.

ROFANO, G.; TROTTA, N.; PEPE, R.; PAGNOTTA, M. A.; SACCARDO, F.; CARDI, T. Improving the artichoke quality of Campania region. *Acta Horticulturae*, Estados Unidos, v. 983, n. 1, p. 31-33, 2013.

ROSEIRO, L. B.; BARBOSA, M.; AMES, J.; WILBEY, A. Cheese making with vegetable coagulants the use of *Cynara L.* for the production of ovine milk cheeses. *International Journal of Dairy Technology*, Canadá, v. 56, n. 2, p.76-85, 2003.

ROTTENBERG, A.; ZOHARY, D.; NEVO, E. Isozyme relationships between cultivated artichoke and the wild relatives. *Genetic Resources and Crop Evolution*, Dordrescht, v. 43, n. 1, p. 59-62, 1996.

SALLAM, S. M. A.; BUENO, I. C. S.; GODOY, P. B.; NOZELLA, E. F.; VITTI, D. M. S. S.; ABDALLA, A. L. Nutritive value assessment of the artichoke (*Cynara Scolymus*) by product as an alternative feed resource for ruminants. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, México, v. 8, n. 1, p. 181-189, 2008.

SANTOS, F. S.; JÚNIOR, A. T. A.; JÚNIOR, S. P. F.; RANGEL, R. M.; SCAPIM, C. A.; MORA, F. Predição de ganhos genéticos para o terceiro ciclo de seleção recorrente em uma população de milho pipoca. *Acta Scientiarum Agronomy*, Maringá, v. 66, n. 3, p. 389-396, 2008.

SCHUTZ, K.; KAMMERER, D.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. Identification and quantification of caffeoylquinic acids and flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus L.*) heads, juice, and pomace by HPLC-DAD-ESI/MSn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, n. 13, p. 4090-4096, 2004.

SERGIO, L.; CARDINALI, A.; PAOLA, A.; DI VENERE, D. Biochemical properties of soluble and bound peroxidases from artichoke heads and leaves. *Food Technology and Biotechnology*, Slovenia, v. 47, n. 1, p. 32-38, 2008.

SHAHIDI, F. Natural antioxidants: an overview. In: SHAHIDI, F. Natural antioxidants: Chemistry, health effects and applications. *Champaign, IL: AOCS Press*, 1997. p. 1-7.

SILVA, J. G.; VIERA, A. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. *Revista Brasileira Farmacognosia*, Curitiba, v.17, n. 1, p.572-7, 2010.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, Califórnia, v. 299, n. 1, p. 152-177, 1999.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de Nutrição*, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SONNANTE, G.; CARLUCCIO, A. V.; PAOLIS, A.; PIGNONE, G. Identification of artichoke SSR markers: molecular variation and patterns of diversity in genetically cohesive taxa and wild allies. *Genetic Resources and Crop Evolution*, Alemanha, v. 55, n. 7, p. 1029-1046, 2008.

SONNANTE, G.; PIGNONE, D.; HAMMER, K. The Domestication of Artichoke and Cardoon: From Roman Times to the Genomic Age. *Annals of Botany*, Oxford, v. 100, n. 5, p. 1095-1100, 2007.

SUZIN, M.; GIROTO, L.; GRANDO, M. F.; CALVETE, E. O.; DONIDA, B.; AUGUSTIN, L.; BAGGIO, M. I. Estabelecimento in vitro de explantes de cultivar brasileira de alcachofra. In: CONGRESSO DE OLERICULTURA, 48., 2008. *Anais...* São Paulo, 2008. p. 23.

TESI, R. Primi risultati del miglioramento genetico nelle varietà Toscane di *Cynara cardunculus* v. *scolymus* L. In: ATTI 2° CONGRESSO. INTERNATINAL DI STUDI SUL CARCIOFO, 2, 1976, Bari. *Anais...* Torino: Minerva Medica, 1976. p. 747-763.

VARSHNEY, K. RARK, A. G.; SORRELLS, E. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *Trends in Biotechnology*, Chicago, v. 23, n. 1, p. 48-55, 2005.

WELBAUM, G. E. Annual culture of globe artichoke from seed in Virginia. *Hort Technology*, Estados Unidos, v. 4, n. 2, p. 147-50, 1994.

ZHU, Q. Y.; HOLT, R. R.; LAZARUS, S. A.; OROZCO, T. J.; KEEN, C. L. Inhibitory effects of cocoa flavonols and procyanidin oligomers

on free radical induced erythrocyte hemolysis. *Society for Experimental Biology and Medicine*, Estados Unidos, v. 1, n. 1, p.321-329, 2002.