



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL GOIANO – CAMPUS URUTAÍ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS

**Genética populacional de *Gossypium hirsutum* raça *marie galante* no Brasil
segundo condições de estresse hídrico e fertilidade do solo**

Thiago Henrique de Lima

MESTRADO PROFISSIONAL

Urutaí - GO
2017

THIAGO HENRIQUE DE LIMA

GENÉTICA POPULACIONAL DE *Gossypium hirsutum* raça *marie galante* NO BRASIL SEGUNDO CONDIÇÕES DE ESTRESSE HÍDRICO E FERTILIDADE DO SOLO

Orientador: Prof. Dr. Ivandilson Pessoa Pinto de Menezes

Dissertação apresentada ao Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas para obtenção do título de MESTRE.

Urutaí - GO
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/IF Goiano Campus Urutaí

L732g Lima, Thiago Henrique de.

Genética populacional de *Gossypium hirsutum* raça *marie galante* no Brasil segundo condições de estresse hídrico e fertilidade do solo [manuscrito] / Thiago Henrique de Lima.

-- Urutaí, GO: IF Goiano, 2017.

24 fls.

Orientador: Dr. Ivandilson Pessoa Pinto de Menezes.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal Goiano Câmpus Urutaí, 2017.

1. Algodoeiro mocó. 2. Marcadores microssatélites. 3. Diversidade genética. 4. Pré-melhoramento. 5. Coleções temáticas. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

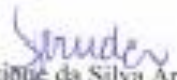
TÍTULO: "Genética populacional de *landraces* de algodoeiro perene do Brasil, *Gossypium hirsutum* v. *marie galante*: Disponibilidade de recursos genéticos".


AUTOR: Thiago Henrique de Lima

ORIENTADOR: Ivandilson Pessoa Pinto de Menezes

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de **MESTRE EM PROTEÇÃO DE PLANTAS**, pela comissão examinadora:


Prof. Dr. Ivandilson Pessoa Pinto de Menezes – Presidente
Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí


Profa. Dra. Alcione da Silva Arruda - Examinadora
Universidade Estadual de Goiás – Campus Ipameri


Prof. Dr. Anderson Rodrigo da Silva - Examinador
Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí

Data da realização: 16 de março de 2017.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus por minha vida, família e amigos.

Ao Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí, seu corpo docente, direção e administração que oportunizaram todo meu aprendizado acadêmico e ético, durante a realização da graduação e mestrado.

Ao professor e meu orientador Ivandilson Pessoa Pinto de Menezes, pela orientação, apoio e confiança, desde o início do mestrado até a realização deste trabalho.

A todos os professores da instituição, por me proporcionarem um grande aprendizado, tanto científico, como também moral e ético.

À minha família, pelo carinho, incentivo e apoio durante a minha formação acadêmica. Agradeço especialmente a minha mãe Walkíria, pelo amor e por seu esforço máximo na minha criação, abrindo mão de suas vontades em certos momentos para me possibilitar a melhor educação. Ela que sempre me passou valores morais e éticos de grande importância para minha vida.

Ao meu avô José de Lima Neto e avó Maria Rezende de Lima, por suas imprescindíveis influências, desde a infância, me incentivando e apoiando nos momentos mais difíceis. Palavras não são suficientes para descrever a importância destas pessoas em minha vida.

À minha namorada Franciele Cristina, pelos momentos de incentivo durante a realização deste trabalho. Independente do futuro, hoje é uma pessoa de grande importância em minha vida.

A todos meus colegas e companheiros de laboratório (LaGeM / IF Goiano – Campus Urutaí) que me auxiliaram nas práticas laboratoriais e em momentos de dificuldades estando também presentes nas conquistas durante o mestrado.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) pela concessão da bolsa de mestrado, de auxílio imprescindível durante a realização do mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro ao projeto que originou este trabalho.

Por fim, agradeço a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha pós-graduação, o meu muito obrigado!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	5
4. RESULTADOS.....	9
5. DISCUSSÃO.....	17
6. CONCLUSÃO.....	20
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21

RESUMO

O algodoeiro mocó (*Gossypium hirsutum* r. *marie galante*) representa uma importante fonte de variabilidade para o melhoramento genético do algodão comercial. A Embrapa tem realizado coletas e conservação de acessos deste tipo de algodoeiro, devido apresentarem ampla variação morfológica e tecnológica de fibra, que ainda é pouco explorada. Outro interesse por este algodoeiro é o seu bom desempenho no semiárido nordestino, o que nos faz acreditar que esta espécie tenha sido selecionada por condições adversas de solo e clima desenvolvendo genótipos superiores. A falta de dados organizados disponíveis dos acessos coletados deste tipo de algodoeiro resulta na pouca exploração de seu potencial genético. O objetivo deste trabalho foi caracterizar geneticamente acessos de algodoeiro mocó pertencentes ao germoplasma da Embrapa Algodão, utilizando marcadores de microssatélites, assim como a seleção de genótipos que possam ter maior tolerância a condições climáticas de seca e baixa fertilidade de solo. Utilizamos dados geográficos e sobre manutenção *in situ* de 331 plantas de algodoeiro do tipo mocó, das quais 280 foram genotipadas, sendo 254 encontradas em nove estados do Nordeste e os demais 26 em dois estados do Norte. Coleções temáticas (CTs) quanto a períodos de seca e baixa fertilidade de solo foram definidas com base nas coordenadas geográficas dos acessos e mapas interativos de climas e potencial agrícola do Brasil, obtidos no site do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Doze marcadores de microssatélites foram usados na genotipagem. A análise genética foi realizada com base no número de alelos por loco (A) e privativos, heterozigosidade esperada (H_E) e observada (H_O). A relação genética entre as coleções temáticas foi analisada através da distância genética (DG) de Rogers (modificada), além da estatística F de Wright para verificar estruturação genética. Sobre a manutenção *in situ*, as plantas de algodoeiro foram encontradas na maioria das vezes em propriedades rurais (65,3%). Considerando as áreas urbanas e rurais, 68,6% das plantas eram mantidas como plantas de quintais ou jardins. Obteve-se três coleções temáticas, sendo a de maior interesse a CT3 composta por indivíduos coletados em grandes períodos de seca e baixa fertilidade de solo. Foram detectados na amostra total 71 alelos, com uma média de 5.9 por loco, variando de 3 a 9. A média de H_E por loco foi alta 0.53, entretanto H_O foi baixa, 0.15, corroborando com alto índice de fixação, $f = 0.72$. Embora, tenha sido verificado que os três *pools* gênicos, representados pelas CTs, apresentaram baixa e significativa diferenciação genética ($F_{ST} = 0.05$, $p < 0.05$), a diversidade genética descritiva entre os grupos não foi estatisticamente diferente considerando o teste de Wilcoxon ($p > 0.05$). O valor de F_{ST} encontrado, corroborou com a baixa média de distância genética entre as coleções temáticas, 0.062. Apesar da baixa diferenciação genética entre regiões com diferentes períodos de seca e níveis de fertilidade de solo, o germoplasma apresenta similar e expressiva diversidade genética organizada em genótipos homozigotos. Assim, podendo ser aproveitada como fonte alélica em estudos de valoração para o uso em programas de melhoramento genético.

Palavras-chave: Algodoeiro mocó; marcadores microssatélites; diversidade genética; pré-melhoramento; coleções temáticas

ABSTRACT

The mocó cotton (*Gossypium hirsutum* r. *marie galante*) represents an important variability source for genetic breeding of commercial cotton. The Embrapa has been collecting and conservating accessions of this type of cotton, because they present a wide morphological and technological fiber variation, which is still little explored. Another interest in this cotton is its good performance in the northeastern semi-arid region, which makes us believe that this species has been selected by adverse soil and climate conditions developing superior genotypes. The lack of available organized data on the accesses collected from this type of cotton results in little exploration of its genetic potential. The objective of this work was to genetically characterize accessions of mocó cotton belonging to the Embrapa Cotton germplasm, using microsatellite markers, as well as the selection of genotypes that may have greater tolerance to dry climatic conditions and low soil fertility. We use geographic and maintenance *in situ* data of 331 plants of mocó cotton, of which 280 were genotyped, 254 were found in nine Northeastern states and the remaining 26 in two northern states. Thematic collections (TCs) for dry periods and low fertility were defined based on the geographical coordinates of the accessions and the interactive maps of Brazil climates and agricultural potential obtained from the website of the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE). Twelve microsatellite markers were used for genotyping. Genetic analysis was performed based on the number of alleles per locus (A) and private, expected (H_E) and observed (H_O) heterozygosity. The genetic relationship between the thematic collections was analyzed through the genetic distance (GD) of Rogers (modified), besides the F statistic of Wright to verify genetic structuration. About *in situ* maintenance, the cotton plants were most found in farms (65,3%). Considering the urban and rural areas, 68,6% of the plants were kept as backyard or dooryard plants. There were three thematic collections, being of most interest the CT3, constituted by individuals collected in great periods of dry and low soil fertility. Were detected in the total sample 71 alleles, with an average of 5.9 per loco, ranging from 3 to 9. The mean H_E per loco was high 0.53, however H_O , was low, 0.15, corroborating with high fixation index, $f = 0.72$. Although it was verified that the three gene pools, represented by CTs, presented low and significant genetic differentiation ($F_{ST} = 0.05$, $p < 0.05$), the descriptive genetic diversity between the groups was not statistically different considering the Wilcoxon test ($p > 0.05$). The F_{ST} value corroborated with the low average genetic distance between the thematic collections, 0.062. Despite the low genetic differentiation between regions with different periods of dry and soil fertility levels, the germplasm presents a similar and expressive genetic diversity organized in homozygous genotypes. Thus, it can be used as an allelic source in valuation studies for use in breeding programs.

Key-words: Mocó cotton; microsatellite markers; genetic diversity; pre-breeding; thematic collections

1. INTRODUÇÃO

A cotonicultura oferece inúmeros benefícios socioeconômicos ao Brasil. Tais benefícios são oriundos da variedade de seus produtos finais, principalmente aqueles relacionados a fibra têxtil natural produzida, e até ao óleo extraído das sementes (SILVA et al., 2011; ULLOA et al., 2013). O algodoeiro pertence à família Malvaceae e ao gênero *Gossypium* (FRYXELL et al., 1992), composto por mais de 50 espécies descritas, que estão organizadas em 9 grupos genômicos, oito diplóides ($2n = 2x = 26$) e um único alotetraplóide ($2n = 4x = 52$) (BRUBAKER et al., 1999; GROVER et al., 2015).

Apenas quatro espécies são cultivadas, sendo os algodoeiros alotetraplóides do Novo Mundo (*Gossypium hirsutum* L.; *Gossypium barbadense* L.) responsáveis por quase totalidade da produção mundial da fibra (98%), enquanto duas espécies do Velho Mundo (*Gossypium herbaceum* L.; *Gossypium arboreum* L.), ainda são utilizados na Índia e em países asiáticos próximos (ULLOA et al., 2007; ZHANG et al., 2008; KANTARTZI et al., 2009).

O Brasil, quinto colocado em produção mundial de algodão (COTTON, 2016), com cerca de 4.514,1 mil toneladas produzidas (Algodão em caroço e pluma) na safra de 2015/16 (BRASIL, 2016), existem três espécies de algodão, *G. hirsutum*, *G. barbadense* e *G. mustelinum*. A última destas é a única nativa e endêmica do país, sendo encontrada predominantemente em populações selvagens no semiárido nordestino (ALVES et al., 2013).

O Brasil apresenta ampla fonte de diversidade do algodoeiro alotetraplóide (BORÉM et al., 2003), as cultivares utilizadas no país são originadas e melhoradas a partir de uma base genética considera estreita (IQBAL et al., 2001). Fato que se explica na tendência dos programas de melhoramento utilizarem apenas ancestrais próximos no desenvolvimento de cultivares com características agrônomicas de interesse. Entretanto, esta linha seguida pelos programas de melhoramento ocasiona a redução da variabilidade genética de forma progressiva (ALVES et al., 2009).

Os avanços tecnológicos da cotonicultura são notáveis e bem consolidados, contudo durante o seu processo histórico de expansão e intensificação, os problemas fitossanitários aumentaram. As doenças são um dos principais desafios para a sustentabilidade da cultura do algodoeiro, agravando-se ainda mais em regiões tropicais ou subtropicais, devido a condições

ambientais mais favoráveis a proliferação (FANG et al., 2010). Mais de 250 patógenos entre vírus, bactérias, fungos e nematoides afetam o algodoeiro (IAMAMOTO, 2003).

Dentre as principais doenças que acometem as lavouras de algodoeiro no Brasil, gerando perdas de produção, estão a doença azul, causada pelo vírus *Cotton leafroll dwarf polerovirus* – *CLRDV*; a mancha angular ou bacteriose, causada pela bactéria *Xanthomonas citri* subsp. *malvacearum*; a ramulose, causada pelo fungo *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*; a meloidoginose, causada pelo nematoide formador de galhas *Meloidogyne incognita*; e a mancha de ramulária causada pelo fungo *Ramularia areola* (SUASSUNA; COUTINHO, 2011; CHITARRA, 2016).

A relação inversa resultante destes eventos progressivos de redução de variabilidade genética das variedades cultivadas (BERTINI et al., 2006; MOIANA et al., 2015) com o aumento da incidência de doenças no algodoeiro torna-se fator limitante ao desenvolvimento da cultura. De modo que, ao utilizar uma fonte de variabilidade genética reduzida os genótipos provindos desta possuirão baixa capacidade de resposta a pressão das doenças (FRANKHAM et al., 2008). Neste contexto, destaca-se como fonte de variabilidade genética, para reduzir a vulnerabilidade genética das cultivares, um tipo local de *G. hirsutum*, encontrado principalmente no semiárido nordestino do Brasil, o algodoeiro mocó (STEPHENS, 1973; ALVES et al., 2009).

O algodoeiro mocó é uma espécie de adaptação local, classificada como *Gossypium hirsutum* r. *marie galante* (HUTCHINSON, 1951), de porte arborescente, perene, com sementes pequenas e lisas, de fibra longa de cor branca ou marrom (GIBAND et al., 2010). Possuindo uma ampla variedade morfológica, ecológica e de fibra (FREIRE; MOREIRA, 1991) além de maior tolerância a temperaturas mais altas e a condições de baixa umidade, se expandiu em 20 anos por todo semiárido do Brasil a partir de seu primeiro relato em 1860 (MOREIRA et al., 1995).

Após amplo cultivo no semiárido (Cerca de 2 milhões de hectares) na década de 70 (FREIRE, 2000), relacionado à sua adaptabilidade a condições adversas como a seca, sofreu drástico declínio de produção a partir de 1983 devido a problemas econômicos, sociais e a introdução do bicudo do algodoeiro (MENEZES et al., 2010). Desde então, com o processo histórico de redução de produção chegando ao abandono de cultivo, o algodoeiro mocó vem sendo encontrado principalmente como plantas ornamentais, em quintais ou populações de beira de estrada (JOHNSTON et al., 2006; MENEZES et al., 2010).

A origem do algodoeiro mocó ainda permanece incerta, entretanto os estudos indicam que sua história evolutiva tenha passado por processos de hibridização, com introgressões de outras espécies de algodão como indicado por caracteres morfológicos (FREIRE et al., 1990; MOREIRA et al., 1995) e marcadores de microssatélites (LACAPE et al., 2007; MENEZES et al., 2010). Esta múltipla influência interespecífica, em conjunto com diferentes condições de cultivo e seleção direcional dos produtores contribuiu para sua ampla variação agromorfológica, o que produz a ideia de ampla variabilidade genética (MENEZES et al., 2010). Para que esta variabilidade genética seja caracterizada, quantificada, preservada e organizada para aproveitamento na ampliação da base genética de programas de melhoramento do algodão, estudos de pré-melhoramento são necessários (ALVES et al., 2009; CARVALHO et al., 2014).

Dentre as tecnologias utilizadas em estudos de diversidade genética de plantas, os marcadores moleculares, tais como, ISOENZIMAS (WENDEL et al., 1992), RFLP - *Restriction Fragment Length Polymorphism* (BRUBAKER; WENDEL, 1994), RAPD - *Random Amplified Polymorphic DNA* (MENEZES et al., 2008), AFLP - *Amplified Fragments Length Polymorphism* (MURTAZA, 2006) são ferramentas amplamente utilizadas, contudo, estes, em estudos com algodão demonstraram baixos níveis de polimorfismo (LACAPE et al., 2007).

Marcadores microssatélites ou *Simple Sequence Repeat* (SSR), ao contrário dos anteriores, revelam alto nível de polimorfismo, possibilitando análises robustas como, caracterização genética de germoplasma (COUTINHO et al., 2014), diversidade e estrutura genética de populações naturais (ALVES et al., 2013), e correlação entre desempenho de características e polimorfismos (XIAO et al., 2010). Ressalta-se que devido os marcadores SSR serem codominantes, abundantes e distribuídos por todo genoma, multialélicos e ter uma alta reprodutibilidade, tornam-se mais adequados para estudos de polimorfismos (NOORMOHAMMADI et al., 2013b; COUTINHO et al., 2014; AMORIM et al., 2015; MENEZES et al., 2015).

2. OBJETIVOS

2. 1. Geral

- Objetivou-se com este trabalho caracterizar e quantificar a variabilidade genética de acessos de algodoeiro mocó do semiárido brasileiro, através de marcadores SSR, assim como a seleção de genótipos que possam apresentar maior tolerância para condições de seca e baixa fertilidade de solo.

2. 2. Específicos

- Caracterizar o modo de manutenção *in situ* dos acessos de algodoeiro mocó de maneira a possibilitar a definição de estratégias de conservação da espécie;
- Definir coleções temáticas, compostas por plantas selecionadas em condições de seca e baixa fertilidade de solo;
- Caracterizar geneticamente, utilizando doze marcadores de microssatélites, acessos de algodoeiro mocó a fim de identificar e compreender seus recursos genéticos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3. 1. Material vegetal

Acessos de algodoeiro mocó, coletados entre 2004 e 2009, pertencentes ao banco de germoplasma da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) foram utilizados neste trabalho. Ressalta-se que os materiais foram disponibilizados conforme a existência de acessos viáveis no banco ativo de germoplasma da Embrapa, que foi renovado e multiplicado no ano de 2014, no campo experimental da Unidade da Embrapa Arroz e Feijão em Santo Antônio de Goiás, Goiás, Brasil. Os dados referentes aos acessos estão disponíveis no *website* ALBRANA (Algodões Brasileiros Nativos e Naturalizados), no link www.cnpa.embrapa.br/albrana, totalizando 331 indivíduos de mocó.

3. 2. Caracterização *in situ*

Foram utilizadas coordenadas geográficas dos pontos de coleta das 331 plantas de mocó, juntamente com informações sobre características da propriedade onde foi mantida (área urbana ou rural, pequena ou média fazenda) e traços morfológicos. Além disso, aproveitou-se para análise informações sobre o uso, cuidados e origem da semente que foram obtidas, quando possível, durante as expedições de coleta.

3. 3. Definição de coleções temáticas

Foi utilizado o *software* Diva-Gis (Versão 7.5) para a definição de coleções temáticas (CTs) compostas por acessos coletados em regiões com condições climáticas de seca e baixa fertilidade de solo. Além disso, utilizou-se os mapas interativos de clima e potencial agrícola do Brasil, disponíveis no *website* do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), para plotagem das coordenadas geográficas dos acessos de mocó.

Para construção do arquivo de entrada do *software*, os dados quanto a latitude e longitude dos acessos foram convertidos em graus decimais, repassados e organizados em colunas dentro de arquivos de texto do Office® Word. Após a plotagem dos dados seguiu-se a seleção dos indivíduos, para formação das coleções. Ressalta-se que para a seleção dos indivíduos quanto às condições estipuladas (Seca e baixa fertilidade) foi necessário fazer um

delineamento de acordo com os parâmetros de divisão espacial oferecidos pelos mapas, tendo por fim a seguinte ordem de seleção: I) acessos coletados em clima semi-árido; II) acessos regiões com período de seca entre 7 a 10 meses no ano; III) acessos coletados em regiões com temperatura quente-média (Maior que 18° C em todos os meses); IV) acessos coletados em regiões com baixa fertilidade de solo (Solos distróficos e álicos).

3. 4. Extração de DNA

Dos 331 indivíduos, 280 foram genotipados: cinco de Sergipe, 20 da Bahia, 47 de Pernambuco, 11 do Rio Grande do Norte, 47 do Piauí, 17 da Paraíba, 6 do Amapá, 20 de Roraima, 31 do Maranhão, 71 do Ceará e cinco de Alagoas. Cada acesso foi representado pelo DNA genômico extraído a partir de cinco sementes de cada planta de algodoeiro mocó.

Amostras de sementes com cerca de 50 mg foram colocadas em tubos de 2 mL com uma esfera de aço de inox (4 mm). Adicionaram-se 700 μ L de tampão de extração (SDS a 10%, 5M de NaCl, 0,5M EDTA, 1M de Tris HCL pH 7,5) e a mistura foi agitada até a maceração dos tecidos. O extrato foi centrifugado 11.700 g por 7 minutos. A fase líquida foi transferida para tubos de 1,5 mL, à qual se adicionou 10 μ L de proteínase K (10 mg mL⁻¹) e 10 μ L de CaCl₂ 1mM, incubando em banho-maria à 37°C por 30 minutos. Para precipitação do DNA foi adicionado uma parte de isopropanol gelado (v/v) e centrifugado a 11.700 g por 10m minutos. O pellet foi lavado duas vezes com etanol a 70%, uma vez com etanol absoluto e ressuspensão em tampão TE (10 mM, 1 mM EDTA). Alíquotas do volume total de DNA extraído foram quantificadas por comparação visual das bandas, geradas de uma série de concentrações conhecidas de DNA fago λ (50, 100, 200, 300 e 400 ng) em géis de agarose 0,8% corados com Sybr green (ZIPPER et al., 2004). O DNA foi diluído em TE para uma concentração de uso de 10 ng μ L⁻¹. Posteriormente o DNA das cinco sementes que representavam um genótipo foi misturado de modo que a solução estoque usada nas reações de PCR continha 2 ng μ L⁻¹ de cada uma das cinco plantas.

3. 5. Obtenção de marcadores SSR

Foram utilizados na genotipagem 12 loci SSR, previamente empregados em estudos de diversidade genética de algodoeiro mocó (MENEZES et al., 2010): BNL 840, BNL 1421, BNL 1434, BNL 1551, BNL 2496, BNL 3103 (LIU et al., 2000), CIR 148, CIR 203, CIR 212, CIR 246, CIR 249 e CIR 311 (NGUYEN et al., 2004), os quais haviam sido selecionados como mais polimórficos em mocó a partir de 141 loci.

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

Concluída a reação foram adicionados 10 µL de solução contendo 0,05% de azul de bromofenol, 0,05% de xileno cianol, EDTA 10 mM e formamida 95%. Os produtos de amplificação foram desnaturados a 95°C por 5 minutos no termociclador, em seguida, imersos em gelo. Alíquota da solução final de cada produto de PCR foi aplicada em gel de poliacrilamida a 6%, separados através de eletroforese vertical e corados com AgNO₃ de acordo com Creste et al. (2001).

3. 6. Análises dos dados

A partir da amostra total de mocó e das coleções temáticas separadamente, foram calculadas as frequências alélicas dos loci polimórficos, número de alelos por locus (A), heterozigosidade esperada (ou diversidade genética - H_E) e observada (H_O), índice de fixação ou endogamia (f) e número de alelos privativos (alelos encontrados em genótipos pertencentes a apenas uma das coleções temáticas analisadas) utilizando o programa GDA - *Genetic Data Analysis*, versão 1.1 (LEWIS; ZAYKIN, 2001). Para cada coleção temática foi calculada a estatística F de Wright, além da análise de variância molecular (AMOVA), através do GenAlEx - *Genetic Analysis in Excel* - versão 6.5 (PEAKALL; SMOUSE, 2012), sendo F_{ST} o índice de diferenciação genética. Além disso, também foram calculados o número de alelos por locus,

H_E , H_O e F_{ST} para os grupos de indivíduos considerando os parâmetros de seleção (Período de seca e fertilidade de solo) de forma independente.

A distância genética entre as coleções temáticas e também a nível de indivíduo foi determinada pelo método de Rogers (1972) modificada por Wright (1978) utilizando o programa BOOD - Avaliação de dendrogramas baseados em estimativas de distâncias/similaridades genéticas através do procedimento de bootstrap (COELHO, 2001). A matriz de distância entre os indivíduos obtida foi usada para construção de dendrograma por meio do programa MEGA - *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* - versão 5 (TAMURA et al., 2011) empregando o agrupamento de Neighbor-joining (SAITOU; NEI, 1987).

4. RESULTADOS

4. 1. Caracterização *in situ*

Plantas de algodoeiro mocó tem sido alvo de coleta para conservação desde a década de 1980, devido ao seu abandono e substituição gradativa pelo algodoeiro herbáceo nos sistemas agrícolas. O grande interesse por esta planta se deve ao seu bom desempenho nas regiões semiáridas do Brasil. Um esforço coletivo de pesquisadores realizou várias expedições de coletas com o objetivo de resguardar este germoplasma e com isso foram visitadas todas as regiões do Brasil de Norte a Sul. Atualmente, os dados de expedições estão disponíveis no ALBRANA (2015).

Conforme os dados de coletas, plantas de algodoeiro mocó foram encontradas em todos os municípios visitados nos estados do nordeste brasileiro, porém, foram menos frequentes e ausentes nas regiões Norte, Sul, Centro-Oeste e Sudeste. Até 2015 um total de 331 acessos foi encontrado em 13 estados do Brasil, durante as expedições de coleta (Figura 1). Com exceção dos acessos identificados nos estados de Roraima, Amapá e Paraná, os demais estavam distribuídos em região de caatinga, representando 88% dos acessos.



Figura 1. Distribuição dos pontos de coleta dos algodoeiros do tipo mocó no Brasil.

As plantas de algodoeiro foram predominantemente encontradas em propriedades rurais (65.3%), e uma proporção (19%) em jardins ou quintais de residências urbanas e outras em beira de estrada (15.7%), provavelmente resultantes de sementes derramadas por caminhões ou plantas deixadas no local (Tabela 1). Parte das plantas nas propriedades rurais não são cultivadas, mas são utilizadas como planta medicinal, devido suas propriedades anti-inflamatórias, como fonte de algodão ou como planta ornamental, e então classificada como planta de fundo de quintal ou de jardim.

Considerando as áreas urbana e rural juntas 68,6% dos algodoeiros mocó mantidos estavam como plantas de jardins ou quintais, mostrando ser a principal forma de manutenção do algodoeiro mocó. Os estados de Ceará, Paraíba e Rio Grande do Norte foram exceções, onde o algodão mocó era cultivado como cultura comercial usando variedades locais (Paraíba) ou variedades melhoradas (Ceará). Alguns campos de algodão abandonados têm sido encontrados na Paraíba, onde as plantas foram capazes de se reproduzir, sendo assim consideradas como populações feral.

Tabela 1. Manutenção de algodoeiro mocó em 13 estados brasileiros: Amapá (AP), Roraima (RR), Pará (PA), Maranhão (MA), Ceará (CE), Piauí (PI), Rio grande do Norte (RN), Paraíba (PB), Pernambuco (PE), Bahia (BA), Alagoas (AL), Sergipe SE e Paraná (PR).

Tipo de população	Número de local de ocorrência													Total
	AP	RR	PA	MA	CE	PI	RN	PB	PE	BA	AL	SE	PR	
Jardins ou quintais	2	30	7	26	31	39	2	2	35	34	4	4	1	217
Espontânea	-	1	-	1	21	-	3	8	21	2	2	1	-	60
Feral	-	-	-	-	-	-	10	-	-	1	-	-	-	11
Variedade melhorada	-	-	-	-	32	-	-	-	-	-	-	-	-	32
Variedade local	-	-	-	-	-	-	-	10	1	-	-	-	-	11
Total	2	31	7	27	84	39	15	20	57	37	6	5	1	331

Pouco mais da metade dos acessos identificados foram derivados de sementes de origem desconhecida (58,3%) e nenhum uso declarado (50,2%). Parte dos acessos encontrados foi derivada a partir de sementes remanescentes da agricultura tradicional local, os quais foram distribuídos pelos familiares, amigos e vizinhos como foi constatado para 37,2% do total. Essa dispersão ou troca de sementes realizada no passado estava associado ao cultivo do algodoeiro

para múltiplos usos, incluindo medicinal, limpeza de ferimentos, produção de pavio de lamparina, ornamental, fiação e agrícola, que somou 49,8% dos acessos estudados. Nas entrevistas fica claro que este uso pelos idosos vem sendo abandonado devido às mudanças dos hábitos culturais pelos mais jovens, indicando que conservação *in situ* deste tipo de algodoeiro dificilmente seria implementada de forma efetiva, necessitando ainda mais de medidas complementares de conservação, a exemplo da *ex situ*.

Todos os algodoeiros mocó apresentavam folhas verdes e sementes separadas, as quais são características botânicas da variedade. Embora a ausência de línter e presença de manchas nas pétalas também sejam estados morfológicos da espécie, constatou-se polimorfismos em suas formas, fato que pode indicar cruzamentos interespecíficos a partir do algodoeiro herbáceo no passado.

No total dos acessos, houve predomínio de sementes nuas (sem línter, 62,2%), verificando 100% de acessos sem línter apenas na PB e PE. A presença de línter foi predominante nos estados da região Norte (AP, RR e PA) e no Maranhão, estado de transição entre a região Norte e Nordeste. Existe possibilidade de introgressão a partir de plantas de *G. barbadense*, que é mais frequente do que plantas de mocó no Norte. A introgressão de línter a partir de plantas de algodão herbáceo também é possível (MENEZES et al., 2010). A presença de mancha na folha também é típica de algodoeiro mocó, entretanto apenas 5,8% dos 72,5% das plantas que apresentavam flores no período da coleta, não apresentaram manchas nas pétalas, sendo encontrado, principalmente, nos estados do MA e PI.

4. 2. Coleções temáticas quanto à seca e baixa fertilidade

Na primeira etapa de definição das coleções temáticas, através do *software* de mapeamento, selecionou-se 226 acessos encontrados em região de clima semi-árido. Destes foram selecionados 171, os quais provinham de regiões com períodos de seca entre 7 a 10 meses no ano (Figura 2) e de regiões com temperatura quente-média - média maior que 18°C - em todos os meses do ano. Por fim, considerando entre estes acessos, aqueles coletados em regiões com baixa fertilidade de solos - solos distróficos e álicos - um total de 102 acessos foram selecionados.

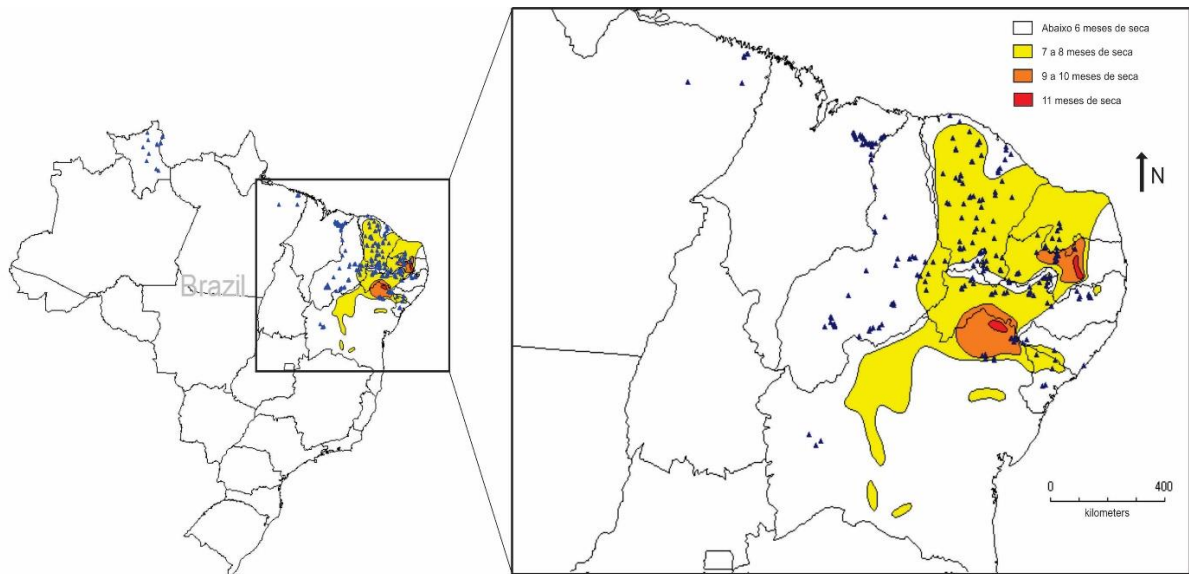


Figura 2. Mapa de distribuição dos pontos de coleta de algodoeiros mocós em relação a clima - períodos de seca - no Brasil.

Assim, foi possível definir 3 coleções temáticas principais considerando o período de seca e baixa fertilidade de solo. A primeira coleção temática (CT1) foi composta por acessos ($n = 160$) coletados em regiões com menores períodos de seca e solos com média e/ou baixa fertilidade. A segunda coleção temática (CT2) possuía acessos ($n = 69$) encontrados em regiões com grandes períodos de seca e em solos com média e/ou alta fertilidade. Já a terceira coleção temática (CT3) era composta por acessos ($n = 102$) encontrados em regiões com grandes períodos de seca e solos com baixa fertilidade. Sendo a CT3 considerada como coleção núcleo para estudos que visem encontrar indivíduos com maior eficiência de raízes na absorção de nutrientes e tolerância a estresse hídrico.

4. 3. Caracterização genética

Um total de 71 alelos (Tabela 2) foi detectado nos algodoeiros com média de 5.92 alelos por loco, variando de 3 a 9 alelos por loco. Em oito desses 12 locos foram observados alelos ocorrendo em mais que 50% das plantas, indicando distribuição desigual ou certa tendência de se fixarem. A média frequência alélica máxima foi de 60% para estes locos, variando de 31% a 88%. A média da diversidade genética por loco foi alta, $H_E = 0.538$, entretanto a heterozigosidade observada foi baixa $H_O = 0.150$, produzindo assim alto e significativo índice de fixação, $F_{IS} = 0.720$.

Tabela 2. Descritores de variabilidade genética na amostra total dos acessos de algodoeiro do tipo mocó.

<i>Loco</i>	<i>Size</i>	<i>Fr_{max}</i>	<i>A</i>	<i>H_E</i>	<i>H_O</i>	<i>F_{IS}</i>
CIR148	141-151	0.751	5	0.416	0.094	0.877
CIR203	242-267	0.413	8	0.771	0.097	0.872
CIR212	130-144	0.860	3	0.249	0.076	0.694
CIR246	150-172	0.885	4	0.213	0.084	0.605
CIR249	193-199	0.768	4	0.389	0.165	0.575
CIR311	169-187	0.847	4	0.270	0.079	0.708
BNL840	149-169	0.537	5	0.617	0.007	0.987
BNL1421	195-247	0.584	8	0.595	0.354	0.406
BNL1434	236-278	0.509	7	0.627	0.218	0.615
BNL1551	157-192	0.428	7	0.705	0.158	0.776
BNL2496	108-166	0.359	9	0.813	0.351	0.568
BNL3103	187-209	0.313	7	0.789	0.157	0.801
Média	-	0.604	5.916	0.538	0.150	0.720

A - Número de alelos por loco; *Fr_{max}* - Maior frequência alélica; *H_E* - Heterozigidade esperada ou diversidade genética; *H_O* - Heterozigidade observada; *F_{IS}* - Índice de fixação.

Na tabela 3 pode-se observar os descritores genéticos separadamente por amostras de cada coleção temática definida. De um total de 71 alelos diferentes amplificados apenas 6 foram privativos, destes, três estão presentes nos acessos da CT2, dois na CT3 e um na CT1. Entretanto todos os alelos privativos apresentaram frequências abaixo de 5%. O número médio de alelos polimórficos por loco nas CTs foi de 5.33. O maior número de alelos foi detectado na CT1 com 66, variando de 3 a 9 por loco. Já o menor número de alelos foi 62 e detectado na CT3. Em média, observou-se expressiva diversidade genética ($H_E = 0.510$) por coleção temática, onde a CT1 (0.537) a maior diversidade. A heterozigidade observada em média foi baixa, $H_O = 0.167$, sendo maior na CT2 (0.220). E da mesma maneira como no germoplasma global, considerando os acessos por CT verificou-se alta endogamia ($F_{IS} = 0.674$), variando de 0.797 para os acessos da CT1 a 0.656 para os acessos da CT3.

Tabela 3. Descritores de variabilidade genética por coleção temática dos acessos de algodoeiro do tipo mocó.

<i>Coleção temática (Meses de seca/ fertilidade de solo)</i>	<i>Amostra</i>	<i>A (Ap)</i>	<i>Alelos privativos</i>	<i>H_E</i>	<i>H_O</i>	<i>F_{IS}</i>
CT1 ($\leq 6/$ média, baixa)	141	66 (5.50)	1	0.537	0.109	0.797
CT2 ($\geq 7/$ média, alta)	67	64 (5.33)	3	0.494	0.220	0.557
CT3 ($\geq 7/$ baixa)	72	62(5.16)	2	0.500	0.172	0.656
Total	280	71	6	-	-	-
Média	-	-	-	0.510	0.167	0.674

A - Número de alelos por CT; *Ap* – Número médio de alelos por loco em cada CT; *H_E* - Heterozigidade esperada ou diversidade genética; *H_O* - Heterozigidade observada; *F_{IS}* - Índice de fixação.

Os algodoeiros agrupados por coleção temática apresentaram baixa distância genética média (DG) de 0.127. Os genótipos pertencentes as coleções temáticas CT1 e CT2 foram os que possuíram maior DG (0.158), enquanto os acessos da CT2 e CT3 apresentarem a menor DG (0.086) (Tabela 4). Esta pequena divergência genética também foi confirmada pelo baixo e significativo valor de F_{ST} total da amostra (0.05, $p < 0.05$). Entretanto na análise par-a-par entre as CTs, detectou-se moderada diferenciação genética entre os acessos da CT1 com os da CT2 ($F_{ST} = 0.065$).

Embora tenha sido verificado que os três *pools* gênicos representados pelas CTs, apresentaram baixa ou moderada diferenciação genética, a diversidade genética descritiva (*A*; *H_E*; *H_O*) entre os grupos não foi estatisticamente diferente considerando o teste de Wilcoxon ($p > 0.05$). Além disto, corroborando com a baixa diferenciação genética detectada entre as CTs, a análise de variância molecular (AMOVA) indicou que a maior parte desta (70%) se encontra entre indivíduos, 25% dentro de indivíduos e apenas 5% entre as populações (CTs).

Tabela 4. Diferenciação genética par-a-par (F_{ST}) e distância genética de Rogers (DG) entre as *landraces* agrupadas em coleções temáticas. F_{ST} abaixo e DG acima da diagonal.

Coleção temática	DG – Distancia genética		
	CT1 ($\leq 6/$ média, baixa)	CT2 ($\geq 7/$ média, alta)	CT3 ($\geq 7/$ baixa)
CT1 ($\leq 6/$ média, baixa)	0.000	0.158	0.139
CT2 ($\geq 7/$ média, alta)	0.065	0.000	0.086
CT3 ($\geq 7/$ baixa)	0.051	0.010	0.000
F_{ST} – Diferenciação genética			

Ao analisar os genótipos considerando os dois parâmetros (Período de seca e fertilidade de solo) que categorizam as coleções temáticas, separadamente, verificou-se que os indivíduos

apresentam maior diferenciação quanto a níveis de fertilidade de solo. A comparação entre os indivíduos coletados em baixa fertilidade ($n = 206$) com os de média ou alta ($n = 74$), revelou uma moderada diferenciação genética, $F_{ST} = 0.11$ ($p < 0.05$). Entretanto a genética descritiva entre o grupo de baixa fertilidade ($A = 70$; $H_E = 0.527$; $H_O = 0.190$) e o de média ou alta ($A = 51$; $H_E = 0.458$; $H_O = 0.045$) não diferiu estatisticamente ($p > 0.05$). Já em relação a períodos de seca, contrastando os indivíduos encontrados em regiões de sete ou mais meses de seca ($n = 139$) com os de períodos inferiores de estiagem ($n = 141$), baixa estruturação foi encontrada ($F_{ST} = 0.05$). A genética descritiva dos dois *pools* gênicos, ≥ 7 meses de seca ($A = 70$; $H_E = 0.503$; $H_O = 0.195$) e ≤ 6 meses de seca ($A = 66$; $H_E = 0.537$; $H_O = 0.109$), também não apresentou diferença significativa ($p > 0.05$).

Apesar da distância média global entre os genótipos ter sido expressiva (0.506), o dendrograma revelou baixo nível de agrupamento molecular para a categorização estipulada no trabalho - coleções temáticas - (Figura 3).

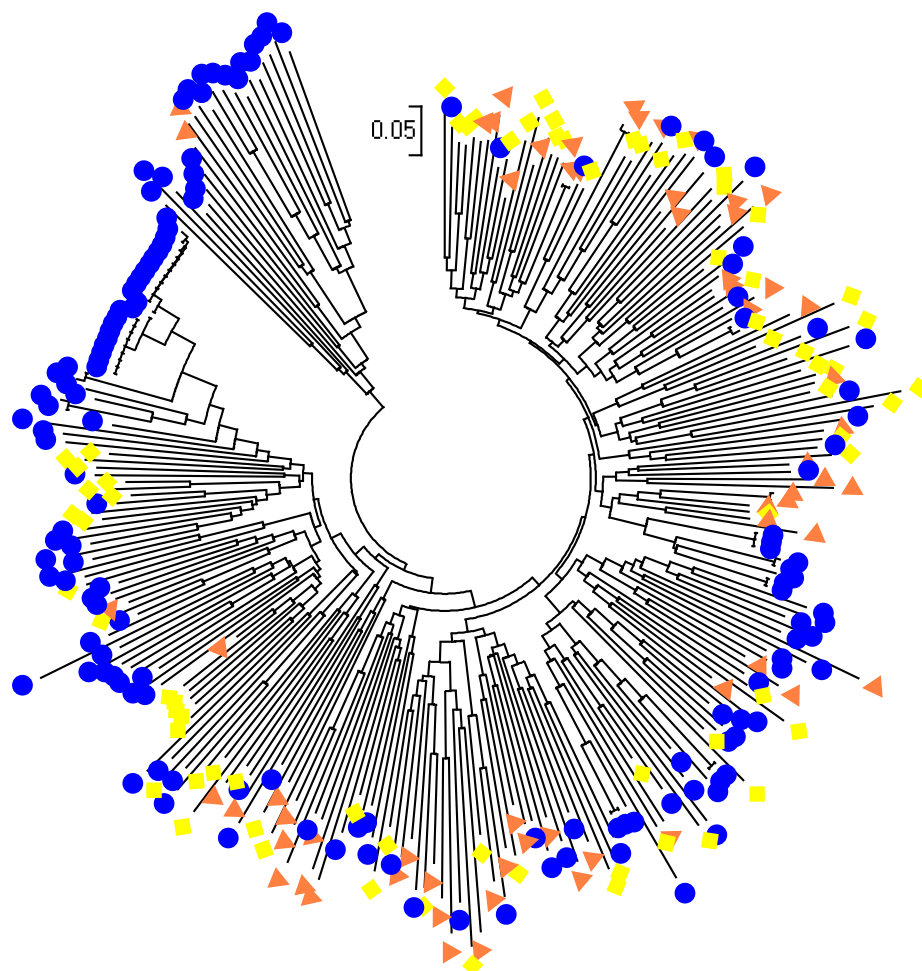


Figura 3. Árvore de Neighbor-Joining entre 280 plantas de algodoeiro mocó categorizadas pelas coleções temáticas. As coleções CT1, CT2 e CT3 são representadas pelos símbolos, círculo azul, triângulo laranja e losango amarelo, respectivamente.

Embora parte dos genótipos da CT1 esteja em grupos bem definidos, a parcela restante da coleção está mesclada com os acessos da CT2 e CT3, sem agrupamentos definidos. O baixo padrão de organização molecular dos indivíduos, em relação as coleções temáticas, é similar ao indicado pela estatística F de Wright.

5. DISCUSSÃO

Pode-se perceber que o principal motivo para manutenção do algodoeiro mocó em fundo de quintais no semiárido nordestino é o uso para fins medicinais de seus propágulos vegetativos. Modo de conservação *in situ* também observado para *G. barbadense* no Brasil (CASTRO et al., 2016) e diferente dos algodoeiros selvagens do Brasil, *G. mustelinum*, os quais ocorrem em pequenas populações nas margens de rios frequentemente encontradas no semiárido nordestino (BARROSO et al., 2010; MENEZES et al., 2014).

Embora o algodoeiro apresente boa capacidade de reprodução espontânea, ameaças de perda intensas por deriva são elevadas, como pode ser constatado pela redução numérica de plantio relacionada a seu abandono comercial e cultural (MENEZES et al., 2010). Assim, este trabalho sugere que medidas para preservação *ex situ* devem ser realizadas, devido a sua incerta sobrevivência *in situ*, que depende dos hábitos culturais e cuidados dos proprietários em relação as plantas na região, como tem sido alertado em trabalhos anteriores para *G. barbadense* (ALMEIDA et al., 2009) e para *G. mustelinum* (BARROSO et al., 2010). No sentido de preservação, foram produzidos dados acerca da composição genética de grande parte do germoplasma da espécie conhecidos e coletados no Brasil até então.

O germoplasma de algodoeiros mocós remanescentes coletados apresentou alta diversidade genética, para os 12 marcadores microssatélites estudados, quando comparada a híbridos de cultivares, cultivares comerciais e linhagens avançadas de algodão (NOORMOHAMMADI et al., 2013a; MOIANA et al., 2015; PEREIRA et al., 2015). Além disso, o número de alelos e a diversidade genética encontrada também foram maiores em relação ao apresentado para outras espécies de algodoeiro, como *G. barbadense* (ALMEIDA et al., 2009) e *G. mustelinum* (BARROSO et al., 2010; MENEZES et al., 2014).

Em comparação com o germoplasma de algodoeiro mocó caracterizado para os mesmos locos por Menezes et al. (2010), verificou-se aumento de alelos amplificados. Os marcadores utilizados neste estudo retratam que o algodoeiro mocó apresenta ampla base genômica, indicando ser maior que as de cultivares comerciais. Essa ampla diversidade genética dos algodoeiros mocós deve-se as múltiplas contribuições no seu processo de domesticação e seleção (MOREIRA et al., 1995), a processos de introgressão de outras espécies relacionadas ao seu background genético (FREIRE; MOREIRA, 1991; LACAPE et al., 2007) e a distintos

subgrupos que foram propagados em diferentes agroambientes (FREIRE et al., 1990, MENEZES et al., 2010).

Esta elevada diversidade do germoplasma de algodoeiro mocó indica grande possibilidade de seleção. Desta maneira, contribuindo como ampla fonte de recursos genéticos para programas de melhoramento, que busquem soluções para os problemas fitossanitários da cultura (COUTINHO et al., 2014).

Os altos valores de endogamia (f) observados tanto no germoplasma total como nas amostras separadas por CTs, podem ser elucidados a partir da sua forma de manutenção *in situ*, que se dava em pequenos grupos e até mesmo como indivíduos únicos, e da redução de seu cultivo. Desta maneira, contribuindo para a inexistência ou diminuição de visitas de agentes polinizadores, aumentando a taxa de cruzamento por autofecundação, geitonogamia e cruzamento entre aparentados (ALMEIDA et al., 2009). Neste contexto, Menezes et al. (2010) verificaram que regiões onde ainda ocorrem o cultivo comercial do mocó os índices de endogamia são menores. Assim, apesar da alta diversidade genética encontrada, a elevada endogamia e o limitado fluxo gênico aumentam o risco de perda da variabilidade principalmente por causa da deriva genética.

Os valores baixos e médios de F_{ST} demonstram que não há alto padrão de distribuição casual da variabilidade genética em relação as CTs. A maior parcela da variabilidade genética se encontra dentro das CTs conforme foi indicado pela AMOVA. Com base no alto valor de f , verifica-se que dentro das coleções temáticas, a diversidade genética se encontra em grande parte entre os algodoeiros e organizada em genótipos homozigotos.

O padrão de estruturação genética entre os algodoeiros mocós encontrados no semiárido nordestino, tende a estar mais associado com a divisão entre estados (MENEZES et al., 2010), do que por regiões com diferentes períodos de seca e fertilidade de solo. Tal fato está relacionado ao abandono da cultura no passado, ocasionando desinteresse pela troca de sementes por agricultores e até pelos programas de melhoramento dos estados, desencadeando um processo de isolamento e diferenciação por deriva (MENEZES et al., 2010; MENEZES et al., 2015).

Embora tenha sido encontrado este baixo padrão de estruturação genética quanto as CTs, os valores de DG corroboram com os de F_{ST} , nos revelando maior proximidade entre a CT2 e CT3 e maior divergência de ambas com a CT1. O número de alelos privativos também direciona

a percepção de divergência relatada anteriormente, sendo que dos sete encontrados, três estão presentes na CT2, dois na CT3 e apenas um na CT1.

Um fator limitante do uso de um germoplasma é a falta de estudos detalhados de seus acessos, frequentemente associado ao elevado número dos mesmos, exigindo experimentações faraônicas para seus estudos. O primeiro passo para mitigar esse problema é a definição de uma coleção temática com base em critérios bem definidos, para ser disponibilizada ao melhoramento genético. Neste sentido, embora tenha sido baixa a diferenciação genética entre os *pools* gênicos representados pelas CTs, elege-se como coleção núcleo para o melhoramento genético do algodão a CT3. Isto, devido a coleção possuir reduzido número de indivíduos ($n = 72$), ser composta de indivíduos encontrados em regiões com grandes períodos de seca e baixa fertilidade de solo, e apresentar alta diversidade genética sem perdas expressivas da variabilidade genética representada nas amostras de algodoeiros mocós obtidas até então.

6. CONCLUSÃO

Baseado no que foi exposto, pode-se dizer que apesar da baixa diferenciação genética entre regiões com diferentes períodos de seca e níveis de fertilidade de solo, o germoplasma apresenta uma similar e expressiva diversidade genética organizada em genótipos homozigotos. Assim podendo ser aproveitada como fonte alélica pelos programas de melhoramento do algodão. Sendo os indivíduos componentes da CT3 mais indicados para estudos que visem maior eficiência de raízes na absorção de água e nutrientes. Além disto, o fato da maior parcela da diversidade genética estar contida em indivíduos homozigotos, facilita sua disponibilização para o melhoramento genético.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBRANA: Algodões Brasileiros Nativos e Naturalizados. Disponível em: <www.cnpa.embrapa.br/albrana/>. Acesso em: 7 jul. 2015.

ALMEIDA, V. C. et al. In situ and genetic characterization of *Gossypium barbadense* populations from the states of Pará and Amapá, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 7, p. 719-725, jul. 2009.

ALVES, M. F. et al. Diversity and genetic structure among subpopulations of *Gossypium mustelinum* (Malvaceae). **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 12, n. 1, p. 597-609, 2013.

ALVES, M. F. et al. Marcadores moleculares polimórficos entre algodoeiros mocós e herbáceos. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 40, n. 3, p. 406-411, jul. /set, 2009.

AMORIM, J. A. E. et al. Diversity and genetic structure of mangaba remnants in states of northeastern Brazil. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 1, p. 823-833, 2015.

BARROSO, P. A. V. et al. In situ conservation and genetic diversity of three populations of *Gossypium mustelinum* Miers (ex Watt). **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 57, n. 3, p. 343-349, 2010.

BERTINI, C. H. C. M et al. Characterization and genetic diversity analysis of cotton cultivars using microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 29, n. 2, p. 321-329, 2006.

BORÉM, A. et al. Considerations about cotton gene escape in Brazil: a review. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 3, n. 4, p. 315-332, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira grãos: Safra 2016/17 – Primeiro levantamento**. Brasília, 2016. p. 1-162.

BRUBAKER C. L. et al. The origin and domestication of cotton. In: SMITH, C. W.; COTHREN, J. T (Eds). **Cotton: Origin, History, Technology and Production**. New York: John Wiley e Sons, 1999. p. 3-32.

BRUBAKER C. L. WENDEL, J. F. Reevaluating the origin of domestication cotton (*Gossypium hirsutum*, Malvaceae) using nuclear restriction fragment length polymorphism (RFLP). **American Journal of Botany**. Saint Louis, v. 81, p. 1309-1326, 1994.

CARVALHO, L. P. et al. Inheritance of different fiber colors in cotton (*Gossypium barbadense* L.). **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 14, n. 4, p. 256-260, 2014.

CASTRO, A. A. et al. *Gossypium barbadense*: An approach for *in situ* conservation in Cerrado, Brazil. **Journal of Agricultural Science**, Toronto, v. 8, n. 8, p. 59-67, 2016.

CHITARRA, L. G. **Identificação e Controle das Principais Doenças do Algodoeiro**. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/986846>>. Acesso em: 20. dez. 2016.

COELHO, A. S. G. BOOD: Avaliação de dendrogramas baseada em estimativas de distâncias/similaridades genéticas através do procedimento de bootstrap. Versão 3.03, Goiânia, Universidade Federal de Goiás, 2001.

COTTON: World markets and trade. Disponível em: <<https://www.parkdalemills.com/wp-content/uploads/cotton-data/PDFs/1870%20Cotton%20World%20Markets%20and%20Trade%2012-09-16.pdf>>. Acesso em: 16 dez. 2016.

COUTINHO, T. C et al. Determinação da diversidade genética entre acessos de algodão por meio de marcadores microssatélites. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 5, p. 1447-1458, set. /out. 2014.

CRESTE, S. et al. Detection of single sequence repeat polymorphism in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, Ottawa, v. 19, n. 4, p. 299-306, 2001.

FANG, D. D. et al. A new SNP haplotype associated with blue disease resistance gene in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) **Theoretical and Applied Genetics**, Heidelberg, v. 120, n. 5, p. 943-953, 2010.

FRANKHAM, R. et al. **Fundamentos de genética da conservação**. Ribeirão Preto: SBG, 2008. 262 p.

FREIRE, E. C. **Distribuição, Coleta, Uso e Preservação das Espécies Silvestres de Algodão no Brasil** (Comunicado Técnico). Campina Grande: Embrapa Algodão, documentos, n. 78, 2000.

FREIRE, E. C. et al. **Avaliação preliminar da coleção de germoplasmas de algodoeiro arbóreo no nordeste do Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão, documentos, n. 38, 1990.

FREIRE, E. C.; MOREIRA, J. A. N. Relações genéticas entre o algodoeiro mocó e diferentes espécies e raças de algodoeiro. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 2, p. 393-411, 1991.

FRYXELL, P. A. et al. A revision of *Gossypim* Sect. *Grandicalyx* (Malvaceae), including the description of six new species. **Systematic Botany**, Laramie, v. 17, n. 1, p. 91-114, 1992.

GIBAND, M. et al. Cotton: taxonomy, origin and domestication. In: WAKELYN, P. J.; CHAUDHRY, M. R (Ed.). **Cotton: Technology for the 21st century**. Washington: International Cotton Advisory Committee, 2010. p. 5-17.

GROVER, C. E. et al. Re-evaluating the phylogeny of allopolyploid *Gossypium* L. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 92, p. 45-52, 2015.

HUTCHINSON, J. B. Intra-specific differentiation in *Gossypium hirsutum*. **Heredity**, v. 5, n. 2, p. 161-193, 1951.

IAMAMOTO, M. M. **Doenças foliares do algodoeiro**. Jaboticabal: FUNEP, 2003.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://downloads.ibge.gov.br/downloads_geociencias.htm>. Acesso em: 7 jul. 2015.

IQBAL, M. J. et al. A genetic diversity bottleneck in the evolution under domestication of upland cotton *Gossypium hirsutum* L. examined using DNA fingerprinting. **Theoretical and Applied Genetics**, Heidelberg, v. 103, n. 4, p. 547-554, 2001.

JOHNSTON, J. A. et al. Assessing gene flow from Bt cotton in Brazil and its possible consequences. In: HILBECK, A.; ANDOW, D. A.; FONTES, E. M. G. (Ed.). **Environmental risk assessment of genetically modified organisms. Volume 2: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil**. Cambridge: CABI Publishing, 2006, p. 261-299.

KANTARTZI, S. K. et al. Assessing genetic diversity in *Gossypium arboreum* L. cultivars using genomic and EST-derived microsatellites. **Genetica**, Heidelberg, v. 136, n. 1, p. 141-147, 2009.

LACAPE, L. M. et al. Microsatellite diversity in tetraploid *Gossypium* germplasm: assembling a highly informative genotyping set of cotton SSRs. **Molecular Breeding**, Heidelberg, v. 19, n. 1, p. 45-58, 2007.

LEWIS, P.; ZAYKIN, D. **Genetic data analysis**: computer program for the analyses of allelic data (software). Versão 1.1. 2001. Disponível em:< <http://phylogeny.uconn.edu/software/>>. Acesso em: 25. fev. 2016.

LIU, S. et al. Chromosomal assignment of microsatellite loci in cotton. **Journal of Heredity**, Oxford, v. 91, n. 4, p. 326-332, 2000.

MENEZES, I. P. P. et al. Distância genética entre linhagens avançadas de germoplasma de algodão com uso de marcadores de RAPD e microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 10, p. 1339-1347, out. 2008

MENEZES, I. P. P. et al. Genetic diversity of mocó cotton (*Gossypium hirsutum* r. *marie galante*) from the northeast of Brazil: implications for conservation. **Botany**, Ottawa, v. 88, n. 8, p. 765-773, 2010.

MENEZES, I. P. P. et al. Susceptibility of *Gossypium mustelinum* Populations to the Main Cotton Diseases in Brazil. **Journal of Agricultural Science**, Toronto, v. 6, n. 3, p. 39-47, 2014.

MENEZES, I. P. P. et al. Genetic characterization of cotton landraces found in the Paraíba and Rio Grande do Norte states. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 15, n. 1, p. 26-32, jan./mar. 2015.

MOIANA, L. D. et al. Genetic diversity and population structure of upland cotton Brazilian cultivars (*Gossypium hirsutum*) L. raça *latifolium* H.) using SSR markers. **Australian Journal of Crop Science**, Camberra, v. 9, n. 2, p. 143-152, 2015.

MOREIRA, J. A. N. et al. Use of numerical taxonomy to compare “Mocó” cotton with other cotton species and races. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 18, n. 1, p. 99-103, 1995.

MURTAZA, N. Cotton genetic diversity study by AFLP markers. **Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaíso, v. 9, n. 4, p. 1-4, 2006.

NGUYEN, T. B. et al. Wide coverage of the tetraploid cotton genome using newly developed microsatellite markers. **Theoretical and Applied Genetics**, Heidelberg, v. 109, n. 1, p. 167-175, 2004.

NOORMOHAMMADI, Z. et al. Genetic diversity analysis in Opal cotton hybrids based on SSR, ISSR, and RAPD markers. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 12, n. 1, p. 256-269, 2013a.

NOORMOHAMMADI, Z. et al. EST-SSR and SSR analyses of genetic diversity in diploid cotton genotypes from Iran. **Nucleus**, Heidelberg, v. 56, n. 3, p. 171-178, dez. 2013b.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. **Bioinformatics**, Oxford, v. 28, n. 19, p. 2537-2539, 2012.

PEREIRA, G. S. et al. Optimal use of SSR markers for varietal identification of upland cotton. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 50, n. 7, p. 571-581, 2015.

ROGERS, J. S. Measures of genetic similarity and genetic distance. **University of Texas Publication**. Austin, v. 7, p. 145-153, 1972.

SAITOU, N.; NEI, M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology and Evolution**, Oxford, v. 4, p. 406-425, 1987.

SILVA, I. P. F. et al. Estudo das fases fenológicas do algodão (*Gossypium hirsutum* L.). **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, Garça, v. 10, n. 20, p. 69-78, 2011.

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

SUASSUNA, N. D.; COUTINHO, W. M. Manejo das principais doenças do algodoeiro no cerrado Brasileiro. In: FREIRE, E. C. (Ed.), **Algodão no cerrado do Brasil**. Brasília: ABRAPA, 2011. p. 567-612.

TAMURA, K. et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. **Molecular Biology and Evolution**, Oxford, v. 28, n. 10, p. 2731-2739, 2011.

ULLOA, M. et al. Cotton. In: KOLE, C. (Ed). **Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants**. Heidelberg: Springer, 2007. p. 1-49.

ULLOA, M. et al. Genetic diversity and population structure of cotton (*Gossypium* spp.) of the New World assessed by SSR markers. **Botany**, Ottawa, v. 91, p. 251-259, 2013.

XIAO, J. et al. A SNP haplotype associated with a gene resistant to *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **Molecular Breeding**, Heidelberg, v. 25, n. 4, p. 593-602, 2010.

WENDEL, J. F. et al. Genetic diversity in *Gossypim hirsutum* and the origin of upland cotton. **American Journal of Botany**, Saint Louis, v. 79, p. 1291-1310, 1992.

WRIGHT, S. **Evolution and the genetics of populations**. Chicago: University of Chicago, v. 4, 1978. 590 p.

ZHANG, J. et al. Molecular Marker Diversity and Field Performance in Commercial Cotton Cultivars Evaluated in the Southwestern USA. **Crop Science**, Madison, v. 45, n. 4, p. 1483-1490, 2008.

ZIPPER, H. et al. Investigations on DNA intercalation and surface binding by SYBR Green I, its structure determination and methodological implications. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 12, n. 32, p. 1-10, 2004.