

**ANDRÉA GUIMARÃES VIEIRA DE VASCONCELOS**

**RESISTÊNCIA À COCHONILHA DO CARMIM EM CLONES DE PALMA  
FORRAGEIRA**

**RECIFE – PE**

**2011**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA**

**RESISTÊNCIA À COCHONILHA DO CARMIM EM CLONES DE PALMA  
FORRAGEIRA**

**ANDRÉA GUIMARÃES VIEIRA DE VASCONCELOS**

**RECIFE – PE**

**FEVEREIRO – 2011**

**ANDRÉA GUIMARÃES VIEIRA DE VASCONCELOS**

**RESISTÊNCIA À COCHONILHA DO CARMIM EM CLONES DE PALMA  
FORRAGEIRA**

Tese apresentada ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia, formado pelas: Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Universidade Federal da Paraíba (UFPB) e Universidade Federal do Ceará (UFC), como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutora em Zootecnia

Área de concentração: Forragicultura

**Comitê de orientação:**

**Orientador:** Mário de Andrade Lira, Ph D

**Co-orientadores:** Alexandre Carneiro Leão de Mello, D.Sc.  
Mércia Virginia Ferreira dos Santos, D.Sc.

**RECIFE – PE  
FEVEREIRO 2011**

Ficha catalográfica

V331r Vasconcelos, Andréa Guimarães Vieira de  
Resistência à cochonilha do carmim em clones de palma  
forrageira / Andréa Guimarães Vieira de Vasconcelos. – 2011.  
xv, 70 f.: il.

Orientador: Mario de Andrade Lira.  
Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal  
Rural de Pernambuco, Departamento de Zootecnia, Recife,  
2011.

Referências.

1. Biotecnologia 2. Forragem 3. Ganho de seleção  
4. Parâmetros genéticos 5. Resistência à praga 6. Semiarido  
I. Lira, Mario de Andrade, orientador II. Título

CDD 636

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**

**PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA**

**Resistência à cochonilha do carmim em clones de palma forrageira**

Tese de Doutorado elaborada e defendida por **Andréa Guimarães Vieira de Vasconcelos**  
Aprovada pela Comissão Examinadora em 17 de fevereiro de 2011

Comissão Examinadora:

---

Prof. Dr. Mário de Andrade Lira  
Presidente

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Lilia Willadino  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Departamento de Biologia

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Terezinha Rangel Câmara  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Departamento de Química

---

Prof. Dr. José Carlos Batista Dubeux Júnior  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Departamento de Zootecnia

---

Prof. Dr. Mário de Andrade Lira Júnior  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Departamento de Solos

---

Prof. Dr. José Nildo Tabosa  
Instituto Agrônomo de Pernambuco

## DEDICO

*Ao meu pai Dr. Arlindo Eloy Vieira de Vasconcelos (in memoriam), pelo seu exemplo profissional de honradez e dignidade.*

*À minha mãe, Niedja Maria Guimarães, pelo seu amor, empenho, dedicação e incentivo.*

*Às minhas irmãs Daniele Guimarães Vieira de Vasconcelos e Sabrina Guimarães Vieira de Vasconcelos, pelo companheirismo, incentivo e amor.*

*Aos meus sobrinhos Henrique e Arthur, que transformaram minha vida, tornando-a muito mais feliz.*

## AGRADECIMENTOS

A DEUS pelo dom da vida, pela minha saúde e disposição para enfrentar todos os obstáculos e cumprir essa importante etapa da minha vida.

À minha querida mãe, o apoio, ensinamento e estímulo de seguir sempre em frente.

Às minhas irmãs, a confiança, apoio e carinho.

À minha família, em especial à minha Tia Leleu, a ajuda valiosa, confiança, apoio, incentivo e orações.

Aos meus cunhados Fábio e Dirceu, o incentivo e ajuda na tradução dos textos.

Ao Prof. Ph.D Mário de Andrade Lira, pela confiança, transmissão dos conhecimentos, companheirismo e orientações essenciais para a elaboração do presente trabalho, como também para a vida.

Aos conselheiros Prof. Alexandre Carneiro Leão de Mello e Prof. Mércia Virginia Ferreira dos Santos, os ensinamentos, dedicação e amizade.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco pela formação humana e profissional como Engenheira Agrônoma, Mestre e Doutora em Zootecnia.

Ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia (UFRPE-UFPB-UFC), a oportunidade de realização do doutorado.

A todos os Professores do Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia, que pelo excelente nível, conhecimento e didática de ensino que proporcionaram o meu engrandecimento acadêmico e profissional, representado pelo professor Jose Carlos Batista Dubeux Junior.

Às professoras Lilia Willadino, Terezinha Câmara e Claudia Ulisses, a amizade, ensinamentos e contribuições fundamentais para a minha formação.

Aos colegas da graduação Gabriela, Paulo Marcio, Talita e Valdson, as importantes contribuições na execução dos experimentos.

Ao IPA, na pessoa do seu Presidente Julio Zoé, que forneceu o suporte para execução dos experimentos.

Aos colegas do IPA: Deise, Pablo, Vanildo Cavalcanti e Virginia Donato, o apoio, amizade e orientações.

A todos os funcionários do IPA, que me ajudaram durante a execução do experimento, com paciência e atenção, especialmente aos colegas do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e do Laboratório de Entomologia.

Ao Banco do Nordeste, o apoio e oportunidade de crescimento profissional.

Aos meus amigos do Banco do Nordeste que conviveram comigo ao longo desses quatro anos de curso, a paciência, ajuda e companheirismo.

Ao meu Superintendente Sérgio Maia, que com seu exemplo de vida me inspira e incentiva a crescer sempre mais.

A D. Zilda, o carinho de sempre, orações e incentivo.

A todos os meus amigos, que compreenderam minhas ausências e me incentivaram sempre.

À comissão examinadora desta Tese, as valiosas contribuições.

Enfim, a todos que me ajudaram na realização deste trabalho e que não foram citados por um lapso, meus sinceros agradecimentos.

Muito obrigada!!!!



## **BIOGRAFIA DO AUTOR**

Andréa Guimarães Vieira de Vasconcelos, filha de Arlindo Eloy Vieira de Vasconcelos (in memoriam) e Niedja Maria Guimarães, natural de Recife-PE. Graduiu-se em Engenharia Agrônômica na Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, em agosto de 2000. Na graduação, foi bolsista do PIBIC-CNPq durante quatro anos no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da UFRPE. Em julho de 2000, iniciou trabalhos de assistência técnica em empresas agropecuárias do Estado. Em março de 2001, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, na área de concentração em Forragicultura, da UFRPE, defendendo a dissertação em dezembro de 2002. Em março de 2002 prestou concurso para o Banco do Nordeste do Brasil, aprovada, ingressa no mesmo, em julho de 2002, hoje ocupa o cargo de Gerente Executiva da Superintendência Estadual de PE. Ingressou no Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, na área de Forragicultura em março de 2007, defendendo Tese em fevereiro de 2011.

**É superando seus limites que você cresce.**

**É resolvendo problemas que você desenvolve a maturidade.**

**É desafiando o perigo que você descobre a coragem.**

**Arrisque e descobrirá como as pessoas crescem**

**quando exigem mais de si próprias.”**

***Roberto Shinyashiki***

## **SUMÁRIO**

	<b>PÁGINA</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>XI</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>XIII</b>
<b>RESUMO GERAL.....</b>	<b>XIV</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>XV</b>
<b>CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO 1- REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>3</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>23</b>
<b>CAPÍTULO 2 - RESISTÊNCIA À COCHONILHA DO CARMIM EM DIFERENTES ESPÉCIES DE PALMA FORRAGEIRA PROVENIENTES DO CULTIVO IN VITRO .....</b>	<b>29</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>30</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>31</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>32</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>35</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>38</b>
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>46</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>46</b>
<b>CAPÍTULO 3 - ESTIMATIVA DE PARÂMETROS GENÉTICOS E PREDIÇÃO DE VALORES GENOTÍPICOS UTILIZANDO A METODOLOGIA REML/BLUP PARA SELEÇÃO DE PALMA FORRAGEIRA RESISTENTE À COCHONILHA DO CARMIM .....</b>	<b>51</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>52</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>53</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>54</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>56</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>60</b>
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>68</b>
<b>AGRADECIMENTOS .....</b>	<b>68</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>69</b>

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 2

1. Temperaturas e umidade relativa médias observadas durante o período de infestação dos clones de palma forrageira com a cochonilha *Dactylopius opuntiae* no laboratório - ambiente externo e no interior do pote - ambiente interno .....38
2. Número de ninfas e percentual de sobrevivência das ninfas de *Dactylopius opuntiae* sobre os explantes de palma forrageira 28 dias após infestação .....39
3. Estatística descritiva para média de ninfas fixadas por plântula do clone Gigante, referente as observações ao longo do experimento (médias das 20 repetições).....40
4. Valores em  $\mu\text{m}$  da epiderme dos clones de palma forrageira na fase de plântula, provenientes do cultivo in vitro.....43

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 3

1. Incidência de cochonilha do carmim em clones de palma 47 dias após infestação.....58
2. Estimativa de parâmetros genéticos para o caráter de resistência à cochonilha do carmim em clones de palma forrageira avaliados sobre condições controladas na sede do IPA – Recife-PE .....60
3. Resultados apresentados pelo programa SELEGEN para os clones de palma forrageira, 47 dias após infestação.....64
4. Limite inferior e superior do intervalo de confiança para os clones de palma forrageira analisados .....66

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo 2

1. Figura 1 – Plantas de palma forrageira dos clones Gigante (E001), Orelha de Elefante Mexicana e Ipa Sertânia, aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após infestação com ninfas de cochonilha do carmim.....42
2. Figura 2 – Estrutura histológica, parênquima (PA) e epiderme (E) dos clone de palma forrageira Orelha de Elefante Mexicana (A), IPA Sertânia (B) e Gigante (C) proveniente do cultivo in vitro .....45

## RESUMO GERAL

Os trabalhos que compõem esta tese têm como objetivo identificar a variabilidade genética entre clones de palma forrageira e comprovar a resistência à cochonilha do carmim em plantas cultivadas in vitro. Foram realizadas observações quanto à fixação de colônias sobre os cladódios de 20 clones de palma forrageira a partir de uma escala de notas, variando de zero a cinco, sendo zero a ausência de infestação e cinco o maior nível de infestação. Utilizou-se a Metodologia de Modelos Mistos para a obtenção da Melhor Predição Linear Não Tendenciosa (BLUP) dos efeitos genotípicos e o processo da Máxima Verossimilhança Restrita (REML) para a estimação dos componentes de variância e dos parâmetros genotípicos. Verificou-se alta variabilidade genética entre o material genético avaliado, conforme depreende-se das estimativas do coeficiente de variação genotípica (26,73%) e da herdabilidade (72%), que indicam condições favoráveis à seleção, as quais podem conduzir a avanços genéticos consideráveis. Os clones Miúda e Orelha de Elefante Africana foram classificados como resistentes com valor relativo superior a 95%. Na segunda parte do trabalho, plantas dos clones Orelha de Elefante Mexicana, IPA Sertânia e Gigante, provenientes da micropropagação, foram submetidos à infestação artificial com ninfas da cochonilha *Dactylopius opuntiae* para comprovação da resistência a essa praga, após cultivo in vitro. Aos sete, 14, 21, 28 e 35 dias após a infestação, realizaram-se observações quanto à fixação dos insetos sobre as plantas. Amostras das plantas foram colocadas em fixador FAA 50 para confecção de lâminas histológicas. Mediu-se a área da epiderme e do parênquima. Verificou-se que nenhuma ninfa se estabeleceu sobre os clones Orelha de Elefante Mexicana e IPA Sertânia e que 65% das plantas do clone Gigante estavam mortas aos 35 dias em decorrência dos danos causados pelas cochonilhas. Não houve mortalidade de nenhuma das plantas dos materiais considerados resistentes. Foi verificada diferença significativa para espessura da epiderme e o clone Gigante apresentou maior espessura. Dessa forma não se comprova a teoria de que a resistência à cochonilha do carmim está relacionada ao aspecto anatômico de espessura da epiderme.

Palavras-chave: biotecnologia, forragem, ganho de seleção, parâmetros genéticos, semiárido

## ABSTRACT

This thesis' objective is to identify the genetic variability among cactus clones and to demonstrate resistance to cochineal carmine for plants cultivated in vitro. Observations were made regarding the establishment of colonies on the cladodes of 20 clones of cactus, from a scale ranging from zero to five, zero being the absence of infestation and five the highest. We used the mixed model methodology for obtaining the Best Linear Unbiased Prediction (BLUP) of genotype effects and the process of Restricted Maximum Likelihood (REML) to estimate components of variance and genotypic parameters. The variance components and genotypic parameters were obtained by using the REML process. The selection of the best clones by the REM/BLUP methodology was efficient with high gain selection. High genetic variability was verified among the genetic material evaluated, as shown by the coefficient of genotypic variation (26,73%) and hereditary (72%). These coefficients indicate favorable conditions to clone selection, which can favor considerable genetic advances. The clones "Miuda" and "Orelha de Elefante" were selected and classified as resistant, with relative value above 95%. Explants from the clones of "Orelha de Elefante Mexicana" (*Opuntia stricta*), "IPA Sertânia" (*Nopalea cochenillifera*) and "Gigante" (*Opuntia ficus-indica*), originated from the sequential micro-propagation, were submitted to artificial infestation with *Dactylopius opuntiae* cochineal nymphs, in order to prove their resistance to this plague. After 150 days of growth, cultivation were removed from the in vitro condition and maintained in environmental conditions. The observations about the fixation of the insects on the explants were made at 7, 14, 21, 28 and 35 days after infestation. Explant samples were immersed on FAA 50 fixator, to produce histological blades. Epiderm and parenchyma areas were sized from the samples. It was found that no nymphs were present on the "Orelha de Elefante Mexicana" and "IPA Sertânia" clones, and that 65% of the explants of the "Gigante" clone were dead by 35 days because of the damage caused by the cochineals. There was no mortality of any explant from the considered resistant material. There were significant differences in epidermal thickness, with the clone "Gigante" having the highest thickness, which contradicts the theory that resistance to cochineal carmine is related to anatomy.

**Keywords:** biotechnology, forage, gain selection, genetic parameters, semiarid

## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O Semiárido nordestino tem como traço principal as frequentes secas que tanto podem ser caracterizadas pela ausência, escassez ou alta variabilidade espacial e temporal das chuvas. Não é rara a sucessão de anos seguidos de seca. A seca, mesmo sendo um evento climático natural de regiões semiáridas, acaba por representar uma calamidade, ocasionando a miséria e o desalento de famílias que sofrem com a perda das safras e, periodicamente, pode provocar grande impacto sobre o meio ambiente, a economia e a sociedade. Por décadas, as difíceis condições sócio-econômicas têm sido evidenciadas, salientando o alto grau de vulnerabilidade aos impactos climáticos aos quais elas estão submetidas.

Apesar da urbanização ocorrida nos últimos anos, a pecuária tem se constituído, ao longo do tempo, como atividade básica das populações rurais, distribuídas na região semiárida nordestina. As lavouras têm sido consideradas apenas como um subcomponente na maioria dos sistemas de produção predominantes, em face de sua maior vulnerabilidade às limitações ambientais. Devido à irregularidade na oferta qualitativa e quantitativa dos recursos forrageiros, o rebanho nordestino, embora expressivo, apresenta baixos níveis de produtividade.

Assim, a produção de alimentos para as populações e para os rebanhos, em áreas não irrigadas, deve ser baseada em espécies vegetais que apresentem características de alta adaptabilidade às condições edafo-climáticas regionais. Pelas características morfofisiológicas das espécies da família Cactaceae, a palma forrageira possui requisitos para suportar os rigores de clima e as especificidades físico-químicas dos solos das zonas semiáridas.

A palma forrageira está entre as plantas introduzidas no semiárido a que melhor se adaptou a essas condições, sendo uma forrageira estratégica nos diversos sistemas de produção, tendo em vista que sua qualidade nutricional se mantém estável durante todo o ano, além de, se cultivada em condições adequadas, ser bastante produtiva.

No Nordeste brasileiro são cultivadas predominantemente duas espécies de palma forrageira: a *Opuntia ficus indica* Mill e a *Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck, principalmente as variedades Redonda, Gigante e Miúda, as quais não apresentam espinhos. Outras variedades têm



sido geradas pelos institutos de pesquisa, com o objetivo de obter clones mais produtivos, de melhor valor nutritivo e resistente às pragas e doenças. A resistência atualmente é uma característica determinante na seleção de uma variedade de palma, pois a partir do ano de 2000, tem sido constatado um decréscimo da produção em função do aumento de danos causados por insetos e doenças. Atualmente a cochonilha do carmim (*Dactylopius opuntiae*) é a principal praga da cultura na região Nordeste. Estimativas realizadas por órgãos de pesquisa estimam a mortalidade de cerca de 100 mil hectares implantados com a cultura em função da ocorrência dessa praga, o que corresponde a aproximadamente 20% da área cultivada com a cultura na região Nordeste.

Os trabalhos que compõe esta tese têm como objetivo identificar a variabilidade genética entre clones de palma forrageira e comprovar a resistência à cochonilha do carmim em plantas cultivadas in vitro.

Inicialmente a estrutura e a morfologia de plantas micropropagadas são muito diferentes daquelas cultivadas em condições de campo. Dessa forma um dos experimentos realizados para elaboração deste trabalho teve como objetivo avaliar a resistência à cochonilha do carmim em plantas de palma forrageira cultivadas in vitro.

Características anatômicas são apontadas como fator de resistência aos insetos, assim, também foram verificadas características anatômicas entre as espécies estudadas após saída da condição in vitro.

Apesar dos avanços nos programas de melhoramento da palma forrageira, ainda existem poucas informações a respeito do ganho genético e herdabilidade de características desejáveis dos clones. Nesse contexto este trabalho também objetivou obter parâmetros genéticos, utilizando os modelos REML/BLUP com testes de comparação múltipla tradicionais, aplicados sobre médias fenotípicas com vistas a identificar clones promissores para utilização em programas de melhoramento ou plantio direto pelos agricultores.

## CAPÍTULO 1- REFERENCIAL TEÓRICO

### RESISTÊNCIA À COCHONILHA DO CARMIM EM CLONES DE PALMA FORRAGEIRA

#### Palma forrageira

A palma forrageira representa importante recurso forrageiro na alimentação dos animais ruminantes, notadamente durante os períodos de estiagem. O longo período de duração das secas que ocorrem no semiárido brasileiro gera grande vulnerabilidade aos sistemas de produção. Nesse cenário, o grande limitante da produção pecuária está relacionado à quantidade de forragem produzida. A palma forrageira é um poderoso instrumento de apoio para a convivência da pecuária regional com as secas, sendo fonte não só de alimento, mas de água, em regiões onde esse recurso é escasso até para a população humana. A importância desse vegetal na alimentação animal é justificada por sua riqueza em água, em mucilagem, o elevado coeficiente de digestibilidade da matéria seca e possibilidade de alta produtividade, desde que realizado o manejo adequado (Santos et al., 2006a).

A palma forrageira pertence à Divisão Embryophyta, Sub-divisão Angiospermea, Classe Dicotyledoneae, Sub-classe Archiclamidaeae, Ordem Opuntiales e família Cactáceas. Nessa família existem 178 gêneros, com cerca de 2.000 espécies conhecidas. Os gêneros *Opuntia* e *Nopalea* reúnem as espécies de palma mais utilizadas como forrageiras (Félix da Silva & Carvalho, 2006).

Entre as espécies selvagens e cultivadas mais utilizadas, 12 pertencem a *Opuntia* e uma a *Nopalea*. No Nordeste do Brasil, tradicionalmente são utilizadas na alimentação de ruminantes as espécies *Opuntia ficus indica* (L.) Mill., clones Gigante e Redonda, e *Nopalea cochenillifera* Salm Dick., clones miúda ou doce (Santos et al., 2010).

A palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* é originária do continente Americano, sendo o México o centro de origem dessas espécies (Flores-Flores & Tekelenburg, 2001). Informações sobre a introdução da palma no Brasil indicam que a palma foi inicialmente introduzida com o objetivo de produção de carmim. Pessoa (1967) afirma que a introdução da

palma se deu pelos portugueses na época da colonização, provavelmente trazida das Ilhas Canárias, sendo essas de origem mexicana, as quais foram utilizadas para a produção de corantes naturais como o carmim, vindo a ser utilizada como forragem somente por volta de 1915, após o fracasso da criação de cochonilhas e a introdução e propaganda do “Cactus Burbank”, produzido na Califórnia.

Em 1931, o Governo de Pernambuco estabelecia prêmios para os criadores que pretendessem iniciar o cultivo da palma (Pessoa, 1967). O primeiro grande trabalho de difusão da palma, como forrageira no Nordeste, aconteceu após a seca de 1932. Segundo Duque (1980), por ordem do Ministério da Viação, uma grande área do Piauí até a Bahia foi plantada com essa forrageira.

A partir daí, deu-se o avanço da cultura e acredita-se que a área plantada de palma forrageira ultrapasse 500 mil hectares no Nordeste, fazendo do Brasil um dos países que possuem a maior área cultivada de palma forrageira do mundo (Santos et al., 2010).

O Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) e a Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) têm sido pioneiros nos estudos sobre esta cultura, especialmente na seleção de variedades melhor adaptadas à região, na determinação de técnicas de manejo e no estudo do valor nutricional de dietas para ruminantes (Santos et al., 2006a). Vale salientar que o IPA vem desenvolvendo pesquisas com a cultura desde 1958. Trabalhos desenvolvidos na Universidade Federal do Ceará também foram importantes contribuições não só para a disseminação da cultura no Estado, como também para o desenvolvimento de técnicas de manejo e propagação de variedades cultivadas (Llamoca-Zárate, 1999).

Por ser uma cactácea que apresenta características morfofisiológicas de adaptação às condições do semi-árido, a palma passou a ser cultivada em larga escala pelos criadores das bacias leiteiras de Pernambuco e Alagoas (Dubeux Jr. et al., 2010). A palma deixou de ser uma forrageira estratégica para ter uso rotineiro durante o período da estiagem.

As principais características químicas da palma forrageira são: alto conteúdo de água, minerais, carboidratos solúveis, baixa proteína e fibras. A palma forrageira apresenta as seguintes médias de composição química e digestibilidade: Matéria seca (MS) 11%, proteína bruta (PB) 5%, fibra em detergente neutro (FDN) 28%, nutrientes digestíveis totais (NDT) 65%, Cálcio (Ca) 2,88%, fósforo (P) 0,14 %, carboidratos solúveis (CHOS) 29% e digestibilidade in vitro da

matéria seca (DIVMS) 74,4% (Santos et al., 2006a), sendo classificada como concentrado energético (Teixeira, 2001).

A alta porcentagem de água é uma característica positiva ao se tratar de regiões semiáridas, as quais possuem limitações quanto à disponibilidade de água quantitativa e qualitativamente. O consumo da palma pelos ruminantes reduz a necessidade de ingestão de água em caprinos (Vieira, 2006) e ovinos (Ben Salem et al., 1996), entretanto pode limitar fisicamente o consumo e aumentar a diurese (Vieira, 2006). Verifica-se a ocorrência de fezes liquefeitas e perda de peso, quando é utilizada como único volumoso.

A grande diversidade de usos e aplicações da palma forrageira revela a versatilidade dessa espécie vegetal. No semiárido nordestino ela é cultivada quase exclusivamente para alimentação animal e não tem sua potencialidade explorada plenamente. Mundialmente, a palma forrageira é usada na alimentação humana, arraçamento animal, como fonte de energia, na medicina, na indústria de cosméticos, na proteção e conservação do solo, dentre outros usos nobres, a exemplo da fabricação de adesivos, colas, fibras para artesanato, papel, corantes, mucilagem e ornamentação (Barbera, 2001).

Apesar da realização e divulgação de resultados de pesquisas sobre manejo adequado para produção da cultura, proporcionando aumento na produtividade da palma, tem-se verificado, em alguns casos, um decréscimo da produção, em função do aumento de danos causados por pragas e doenças. A cochonilha do carmim é atualmente a principal praga da cultura na região Nordeste (Almeida, 2009).

### **Pragas e doenças no cultivo da palma**

As pragas e os patógenos (fungos, bactérias e vírus) são responsáveis por grandes perdas da agricultura, por causarem injúrias e doenças, além de se alimentarem dos tecidos de plantas. As perdas na produção da agricultura mundial, devido ao ataque de pragas e doenças, chegam a 37%, sendo 13% dessa perda causada por insetos (Gatehouse et al., 1992).

Em forrageiras, a susceptibilidade às pragas e doenças constitui um problema extremamente grave dada à natureza perene da maioria das espécies, a necessidade de garantia da produção de alimento e o elevado custo de substituição de uma forrageira. Essa susceptibilidade é especialmente importante em espécies propagadas vegetativamente, como no caso da palma

forrageira e das apomíticas, uma vez que, sendo as populações constituídas por um único ou por poucos genótipos, podem apresentar maior vulnerabilidade genética (Pereira, 2002).

As pragas e doenças da palma têm aumentado em incidência e importância econômica, em face do aumento da área cultivada e da intensificação dos sistemas de produção, inclusive com maior adensamento das plantas e consequente facilidade de contaminação (Santos et al., 2010).

Para palma cultivada no Nordeste do Brasil, embora haja registros de doenças, as ocorrências estão associadas quase que exclusivamente a pequenos focos, em plantas isoladas, sobretudo quando depauperadas por deficiências nutricionais ou submetidas a longos períodos de estiagem (Datamétrica, 2004). Com relação ao ataque de pragas, duas espécies de cochonilhas merecem maior atenção, pois vêm predando as lavouras de palma de forma sistêmica com graves consequências econômicas para os produtores. A primeira é a cochonilha de escamas (*Diaspis echinocacti*-Bouché), um inseto da ordem Hemiptera e família Diaspididae, conhecida vulgarmente por escama, piolho ou mofo da palma. A segunda é a cochonilha do carmim (*Dactylopius opuntiae* Cockerell), pertencente à ordem Hemiptera, família Dactylopiidae (Warumby et al., 2005).

A cochonilha do carmim é um pequeno inseto, parasita específico das espécies de cactáceas *Opuntia ssp.* e *Nopalea* e seu hospedeiro preferido é a *Opuntia ficus indica* (L) Mill (Flores-Flores & Tekelenburg, 2001), na qual se apresenta como pequenos tufo branco imóveis, parasitando os cladódios da palma. Os tufo são constituídos por uma secreção cerosa, pulverulenta e contém finos filamentos produzidos pelo inseto, protegendo-o de predadores (Adagri-CE, 2008).

Esses insetos vivem como parasitas externos das plantas durante toda a sua vida, ou grande parte dela. Apresentam acentuado dimorfismo sexual na fase adulta. As fêmeas se fixam às raquetes e não mais se locomovem. Os machos possuem asas, mas raramente voam, vivem de 3 a 4 dias e caminham em busca das fêmeas. A reprodução é sexuada e esses insetos são muito prolíferos. A disseminação por recursos próprios é lenta e difícil, por se tratar de inseto de hábito estacionário. Os machos, que são alados, vivem somente para fecundar as fêmeas, morrendo logo em seguida. O principal meio de propagação é quando levadas pelo homem sobre as raquetes de uma área para outra ou acidentalmente presas a roupa ou corpo de animais de transporte (Santos et al., 2006a).

Todas as espécies do gênero *Dactylopius* produzem o pigmento vermelho “carmim”, usado como corante na indústria alimentícia, farmacêutica e de cosméticos. *D. coccus* é a espécie utilizada comercialmente para a obtenção do carmim, sendo conhecida como cochonilha “cultivada” ou “fina” (Adagri-CE, 2008).

Estas espécies são criadas em cactáceas e podem se transformar em pragas, se a cultura não for conduzida tecnicamente ou se as mesmas forem disseminadas livremente nas plantas cultivadas (Warumby et al., 2005). A praga alimenta-se da seiva da planta, injetando simultaneamente toxinas que causam a seca e morte dos cladódios, em um processo que pode durar de 15 dias a seis meses.

Esse inseto, até bem pouco tempo, não era considerado como praga, por esse motivo não foi muito estudado seu controle. Apesar de existir na região há bastante tempo, o nível de infestação era baixo e perfeitamente controlado por inimigos naturais existentes. Para a intensidade de ataque desses insetos aos palméis como vem sendo registrada, não é possível um controle eficiente apenas com a utilização de inimigos naturais nativos.

A ocorrência dessa praga tem promovido acentuada redução da produção de palma forrageira, principalmente nos Estados da Paraíba e Pernambuco, onde predomina o cultivo da espécie *Opuntia ficus indica*, variedades Gigante, Redonda e o clone IPA 20 que são suscetíveis a essa praga (Vasconcelos et al., 2009). Estimativas realizadas por órgãos de pesquisa calculam a mortalidade de cerca de 100 mil hectares implantados com a cultura (Ribeiro, 2009), comprometendo a alimentação animal e, conseqüentemente, o desenvolvimento dos rebanhos e obtenção de receita por parte dos produtores.

Até o presente momento não se tem registro de nenhum foco da cochonilha do carmim no Estado de Alagoas. Ressalte-se que 95% da área é cultivada com a palma da variedade miúda ou doce (*Nopalea cochenillifera*), sendo a palma forrageira a segunda cultura mais importante do Estado (Almeida, 2009). Essa constatação ratifica o trabalho de Vasconcelos et al. (2009), que identificaram a espécie *Nopalea cochenillifera* como resistente.

Torres et al. (2009) estudaram a substituição da palma Gigante pela Miúda em dietas para bovinos em crescimento e concluíram que a palma Miúda pode substituir integralmente a palma Gigante, pois não altera o consumo e a digestibilidade aparente dos nutrientes.

### **Controle da Cochonilha do Carmim**

As ações de controle em relação à cochonilha do carmim exigem um trabalho integrado e com forte ação de conscientização do produtor, porque a propagação é muito rápida. As ações de prevenção e controle são: não adquirir palmas de regiões com ocorrência da cochonilha do carmim; não transitar com animais de regiões com ocorrência da praga para regiões onde não ocorra a praga; eliminar imediatamente as primeiras raquetes atacadas (fornecer aos animais ou queimar); nos plantios adensados, abrir ruas para facilitar a eliminação da praga; destruir os plantios abandonados com ocorrência da cochonilha do carmim.

Segundo Cavalcanti et al. (2001), o controle desse inseto pode ser mecânico, químico, biológico e com uso de variedades resistentes. O controle mecânico em pequenos focos e com baixa densidade populacional do inseto consiste em coletar as raquetes infestadas e transportar em sacos para alimentar os animais, uma vez que este inseto é inofensivo aos homem e animais.

O controle biológico para essa praga (*Dactylopius* sp.) vem sendo estudado, entretanto, sabe-se que, dependendo do nível de dano, não tem sido eficiente apenas com a utilização de inimigos naturais.

No Laboratório de Entomologia da Embrapa Semiárido há bons indicativos da eficiência de um inseto de origem australiana (*Cryptolaemus montrouzieri*) como predador da cochonilha do carmim. Nos testes experimentais, um adulto dessa espécie de joaninha consegue consumir, por dia, entre 300 e 350 ninfas da praga. Outro inseto, *Zagreus bimaculosus*, nativo do semiárido, está sendo avaliado com o mesmo objetivo. Essa é uma tecnologia promissora, a multiplicação dos predadores é simples e pode ser implementada nas propriedades rurais sem a necessidade de qualquer equipamento especial (Ribeiro, 2009).

Outra linha de estudo em desenvolvimento avalia a eficiência dos fungos entomopatogênicos, como a *Beauveria bassiana* e o *Metarhizium anisopliae*, que, pulverizados na cultura, infectam o inseto e causam a sua morte. Nos testes realizados pelos pesquisadores da Embrapa Semiárido em áreas de palma infestadas de cochonilha do carmim, a aplicação desses microorganismos reduziu a população da praga em até 90%. A quantidade que sobreviveu foi tão pequena que a capacidade de causar dano à cultura tornou-se inexpressiva.

O passo seguinte da pesquisa é definir fórmulas para o processamento de bioinseticidas com base nesses fungos. Este produto precisa passar pelas análises de resistência dos microorganismos às condições climáticas da região, após serem pulverizadas no campo. Sem garantias de que vão se manter vivos após serem pulverizados nas plantas de palma, acredita-se

que esses produtos biológicos terão poucas chances no manejo da praga e menos ainda de chegar ao mercado.

Em grandes focos, são necessárias medidas mais enérgicas, o recomendado é cortar e fornecer aos animais, incinerar ou ainda aplicar o tratamento químico. O controle químico é, muitas vezes, inviável, principalmente pelas condições sócio-econômicas dos pequenos produtores rurais e pela dificuldade na conscientização para realização do controle na forma devida. Outros problemas na utilização de inseticidas no controle dessa praga são possíveis implicações ambientais, sobretudo aquelas que podem afetar o equilíbrio natural da população dos insetos. A utilização de inseticidas químicos aumenta os custos de produção, os riscos de contaminação ambiental e consequente intoxicação de animais e seres humanos (Viana & Potenza, 2000). Além disso, encontra-se em análise o processo para registrar um inseticida para utilização na cultura da palma forrageira, acarretando um impedimento legal para utilização desses produtos.

Grande parte da área cultivada com palma localiza-se em pequenas propriedades, onde muitas vezes, devido aos fatores econômicos e à falta de informação a respeito de tecnologias disponíveis, os agricultores não executam qualquer medida visando ao controle da praga.

Diante da ausência de um controle eficiente ou com custo competitivo, uma alternativa de cultivo para a palma em regiões atacadas por esse inseto é o plantio de clones resistentes. Essa alternativa desponta como estratégia ideal para o controle de pragas, pois sua utilização reduz a população do inseto a níveis que não causam danos; não interfere no ecossistema, não promove desequilíbrio ambiental; tem efeito cumulativo e persistente; não é poluente; não acarreta ônus ao sistema de produção e, finalmente, não exige conhecimentos específicos por parte dos agricultores para sua utilização (Lara, 1991).

Trabalhos de seleção de clones visando resistência à cochonilha do carmim, identificaram que as cultivares Miúda (*Nopalea cochenillifera* - Salm Dyck) e Orelha de Elefante Africana (*Opuntia undulata* Griffiths) (Vasconcelos et al., 2009; Santos et al., 2006b), bem como a Orelha de Elefante Mexicana (*Opuntia strica* Haw.) (Santos et al., 2007; Lopes et al., 2010), apresentam resistência a essa praga e recomendam a utilização desses clones na implantação da cultura, principalmente na região de ocorrência da praga.



### **Resistência de plantas a insetos**

Existem vários termos para definir resistência, tolerância, suscetibilidade e são todos expressos de maneira subjetiva. Painter (1968) define a resistência de plantas a insetos como a soma relativa de qualidades hereditárias possuídas pela planta, as quais influenciam o resultado do grau de dano que o inseto causa, representando a capacidade que possuem certas plantas de alcançarem maior produção de boa qualidade, do que outras cultivares, em geral, em igualdade de condições. A resistência é portanto, uma condição genética. Para que a resistência seja válida, deve haver repetibilidade, ou seja, os resultados verificados devem repetir-se em outras ocasiões, nas mesmas condições.

Normalmente é possível observar diferentes níveis de respostas de cultivares ao ataque de determinado inseto, de modo que diferentes graus de resistência podem ser atribuídos: I) Imunidade – diz-se que uma planta é imune a determinado inseto quando ela não sofre nenhum tipo de dano, ou seja, não é consumida nem injuriada pela praga, sob quaisquer condições; II) Alta resistência – considera-se que uma planta é altamente resistente quando em determinadas condições sofre pouco em relação ao dano médio sofrido pelas cultivares em geral; III) Resistência moderada – quando uma planta sofre menos que o dano médio sofrido pelas cultivares com as quais é confrontada; IV) Suscetibilidade – uma planta é suscetível quando é atingida de forma semelhante ao dano médio sofrido pelas cultivares com as quais é comparada; V) Alta suscetibilidade – pode-se dizer que uma planta é altamente suscetível quando esta sofre em maior proporção um dano que o médio sofrido pelas cultivares com que é comparada (Lara, 1991).

Existem ainda certas condições nas quais algumas plantas são pouco danificadas, embora não sejam resistentes. A essas condições denomina-se pseudoresistência, apresentando-se em três tipos básicos: I) Evasão hospedeira – quando a planta passa rapidamente pela fase de maior suscetibilidade, ou quando essa fase coincide com uma época de baixa densidade populacional do inseto; II) Escape – ocorre quando a planta não é infestada, ou não sofre danos, devido a um simples acaso, pode acontecer em condições de baixa ou alta infestação, geralmente detecta-se se houver escape realizando outros ensaios ou em teste com a progênie dessa planta; III) Resistência induzida – trata-se de uma manifestação temporária da resistência, resultante de condições

especiais da planta ou do ambiente, como, por exemplo, variação na quantidade de água de irrigação, fertilidade do solo, uso de inseticidas, etc. cessadas as quais, a planta retorna à condição de suscetibilidade.

Painter (1968) estudou o mecanismo de reação da planta frente ao ataque dos insetos e verificou que a reação da planta ao ser atacada por algum inseto, na maioria das vezes, implica em alterações no seu comportamento ou biologia. Nesse sentido, identificou três tipos de resistência: I) Não-preferência – quando a planta é menos utilizada pelo inseto para alimentação, oviposição ou abrigo, do que outra planta em igualdade de condições; II) Antibiose – quando o inseto se alimenta normalmente da planta e esta exerce um efeito adverso sobre a sua biologia, afetando direta ou indiretamente seu potencial de reprodução; III) Tolerância – capacidade própria da planta para suportar ou recuperar-se dos danos produzidos por uma população de insetos, a qual normalmente causaria sérios prejuízos a um hospedeiro mais suscetível. Este tipo de resistência depende, primordialmente, da própria planta e não da relação inseto-planta, mas o ambiente também pode influenciar este tipo de resistência, pois as plantas mais vigorosas podem tolerar um ataque de pragas. Dos três mecanismos de resistência, tolerância é o mais difícil de quantificar. Basicamente, envolve uma comparação de um certo número de insetos e do dano subsequente na planta. Conseqüentemente, o número de insetos a ser colocado na planta tem de ser inicialmente determinado e relacionado a um dano visível e eventualmente ao rendimento (Cruz & Vendramim, 1998).

A manifestação da resistência pode estar relacionada aos fatores da própria planta, ao inseto, ao ambiente e à interação entre eles. Segundo Bueno (2006), as características relacionadas às plantas podem ser condicionadas pela idade e pela parte infestada, assim, fases diferentes de seu ciclo podem apresentar reações diversas ao ataque, dependendo da parte atingida, os danos podem ser maiores ou menores. Quanto aos insetos, são importantes sua fase e idade, bem como espécie, raça ou biotipo. O condicionamento pré-imaginal e o tamanho da população são fatores que não devem ser descartados. Os efeitos do ambiente relacionam-se basicamente a fatores climáticos e edáficos, como umidade, temperatura e disponibilidade de nutrientes e sais minerais. Plantas adjacentes podem contribuir para o estabelecimento de microclima favorável ao inseto. Tamanho de parcela e plantas daninhas também podem influenciar neste aspecto.

### **Mecanismos de resistência das plantas**

Há muitos anos estuda-se a influência da anatomia e morfologia dos vegetais, bem como a biossíntese e a regulação de compostos químicos de plantas associados à resistência.

Adaptação e resistência traduzem-se por profundas alterações no metabolismo da célula vegetal, entre elas a síntese de proteínas de defesa, expressas por genes específicos, ativados através de mecanismos complexos. Tais proteínas exercem vários papéis na resistência e sobrevivência da planta, de forma direta (combatendo o agente agressor) ou indireta (mantendo a estrutura e as funções celulares). Os mecanismos de resposta e as substâncias envolvidas nos processos de defesa vêm sendo bastante pesquisados, em especial nas últimas décadas, mas ainda existem muitas dúvidas (Pinheiro et al., 1999).

Características anatômicas também foram apontadas como fator de resistência a insetos, na medida em que células mais espessas podem limitar a saída e entrada de inóculos de plantas infectadas ou reduzir a exsudação de nutrientes e outras substâncias requeridas nos estágios iniciais de desenvolvimento dos patógenos (Aragão et al., 2000; Pascholati & Leite, 1995).

Tipos de epidermes, representadas principalmente pela espessura da cutícula, podem agir desfavorecendo a alimentação ou dificultando a penetração dos insetos, dureza da epiderme e pilosidade também têm influência na resistência das plantas. A dimensão das estruturas, como o comprimento, largura, altura etc., também são os aspectos morfológicos relacionados à resistência.

Alguns insetos são favorecidos por superfícies pilosas, entretanto, para outros, a pilosidade dificulta a locomoção, alimentação e oviposição. A resposta do inseto à pilosidade depende da densidade, tamanho e tipo dos pelos (tricomas). Por exemplo, a mosca-branca (*Bemisia tabaci* biótipo B) prefere superfícies pilosas, com condições microclimáticas favoráveis para oviposição e abrigo. Em cultivares comerciais de tomateiro (*Lycopersicon esculentum*), a intensidade de oviposição é dependente da densidade de tricomas. Contudo, em alguns genótipos de espécies selvagens, como *Lycopersicon hirsutum*, *L. hirsutum*, *F. glabratum* e *L. pennellii*, que apresentam grande quantidade de tricomas glandulares, não se verifica essa mesma resposta. O adulto de mosca-branca, ao pousar nos folíolos de tomateiro, é capturado pelo exsudato glandular dos tricomas e não consegue se locomover (Fancelli et al., 2003).

A lignificação pode proporcionar um aumento na resistência das paredes à ação de enzimas degradadoras, impedir a difusão de toxinas do patógeno em direção ao hospedeiro, impedir a difusão de nutrientes da planta hospedeira em direção ao patógeno e restringir a colonização por patógenos (Agrios, 1988).

Algumas substâncias presentes ou depositadas na epiderme das folhas também podem ter relação com a produção vegetal e com a resistência aos patógenos, como é o caso da suberina e da sílica, conforme Pascholati & Leite (1995), Lara (1991) e Silveira et al. (2001).

A consideração da cutícula como estrutura de resistência aos patógenos e aos insetos deve ser analisada com prudência, pois depende da quantidade e qualidade da composição química desta estrutura, além das características do agente de inter-relação. Microrganismos considerados patógenos podem depender ou não de pressão mecânica para entrar na planta hospedeira. Além disso, a cutícula possui regiões descontínuas como nas células secretoras de tricomas glandulares, em papilas de certas flores e até mesmo poros (Cutter, 1986; Agrios, 1997).

Devido ao seu efeito no padrão de crescimento, na morfologia e na anatomia, particularmente, na composição química da planta, os nutrientes minerais podem aumentar ou diminuir a resistência das plantas às pragas e doenças.

Tem sido observado em culturas como arroz (*Oryza sativa*) e aveia (*Avena sativa*), que com o aumento da concentração de nitrogênio (N) solúvel na seiva das plantas ocorre aumento do ataque de *Sogatella furcifera* e *Sitobion avenae*, respectivamente (Marschner, 1995). A redução do teor de potássio (K) (responsável pela ativação da enzima RNA polimerase) nas folhas de arroz e citros aumenta o ataque de *S. furcifera* (Marschner, 1995) e das cochonilhas *Lepidosaphes beckii* e *Saissetia oleae* (Chaboussou, 1987), respectivamente, provavelmente em função da elevação da concentração de aminoácidos livres (Marschner, 1995). Em razão do cálcio (Ca) ser constituinte da lamela média e parede celular, tem-se observado que, com o decréscimo do teor de Ca nas folhas de citros, há aumento do ataque de *L. beckii* e *S. oleae* (Chaboussou, 1987). A maior suscetibilidade de planta a insetos praga pode estar relacionada à expansão do limbo foliar que resulta, em geral, em decréscimo na densidade de tricomas nas folhas (Dale & Milthorpe, 1986).

Atualmente, tem-se usado silício para induzir a resistência de plantas. Pesquisas demonstraram que o silício, mesmo não sendo considerado um elemento essencial, quando colocado à disposição das plantas, contribui para o seu crescimento, aproveitamento de nutrientes

e indução de resistência às doenças fúngicas e aos insetos praga. Carvalho et al. (1999) avaliaram o efeito do silício como indutor de resistência de plantas de sorgo ao pulgão-verde (*Schizaphis graminum* Rond.), com e sem chances de escolha, obtendo resultados nos quais o silício causou redução na preferência e na reprodução do pulgão-verde.

De acordo com Marschner (1995), há pouca informação sobre o efeito do estado nutricional da planta nos mecanismos de defesa contra bactérias e vírus. No entanto, há claras evidências da ação contra doenças causadas por fungos e contra o ataque por pragas. No caso das doenças fúngicas nas superfícies de raízes e folhas, a proteção através da nutrição mineral balanceada seria o resultado de eficiente barreira física, evitando a penetração das hifas, através de cutícula espessa, lignificação e/ou acumulação de silício na camada de células epidérmicas, melhor controle da permeabilidade da membrana citoplasmática, evitando assim, a saída de açúcares e aminoácidos (de que se nutrem os patógenos) para o apoplasto, ou espaço intercelular e formação de compostos fenólicos, com distintas propriedades fungistáticas.

Em resumo, a manifestação da resistência pode estar relacionada aos fatores da própria planta, ao inseto e ao ambiente. A resistência pode ser aumentada por mudanças na anatomia (por exemplo: células epidérmicas mais espessas e maior grau de lignificação e/ou silicificação) e mudanças nas propriedades fisiológicas e bioquímicas (por exemplo: maior produção de substâncias repelentes ou inibidoras). A resistência pode ser particularmente aumentada pela alteração nas respostas da planta aos ataques parasíticos através do aumento da formação de barreiras mecânicas (lignificação) e da síntese de toxinas (fitoalexinas).

### **Melhoramento Vegetal**

O melhoramento de plantas é a mais valiosa estratégia para o aumento da produtividade de forma sustentável e ecologicamente equilibrada, com estimativa de 50% do incremento nas principais espécies agrônomicas nos últimos 50 anos (Borem, 2001). Entretanto, em plantas forrageiras, tal processo é de difícil seleção e execução demorada, porque o objetivo principal é melhorar o desempenho produtivo animal e não apenas da planta (Pereira, 2002).

A seleção dos métodos de melhoramento deve partir dos mais simples para os mais complexos, de acordo com o nível de variabilidade e herdabilidade do caráter que se quer melhorar. Considerando o estágio inicial do programa de melhoramento genético da palma, a utilização de métodos simples como a introdução e a seleção massal, pode conduzir a obtenção

de resultados satisfatórios, utilizando poucos recursos e em curto período de tempo. Entretanto, para espécies com longo histórico de melhoramento ou para caracteres com baixa variabilidade e herdabilidade são recomendados métodos que envolvem testes de progênies, que possibilitam obter maior eficiência no processo seletivo (Pereira, 2002).

A utilização de métodos clássicos como a introdução, seleção fenotípica e seleção genotípica ainda contribuirão bastante para os avanços no melhoramento genético, quando agregadas às novas técnicas.

Segundo Michereff (2001), três etapas básicas devem ser consideradas em qualquer programa de obtenção e utilização de variedades resistentes: I) identificar fontes de resistência, ou seja, identificar no germoplasma genótipos que possuam genes de resistência; II) incorporar estes genes em cultivares comerciais por meio dos métodos de melhoramento; III) após a obtenção de um cultivar resistente, traçar a melhor estratégia para que a resistência seja durável face à natureza dinâmica das populações patogênicas.

Uma das formas mais simples de melhoramento de espécies autógamas é por meio dos métodos baseados em seleção. A seleção não cria variabilidade, mas ela atua na variação existente, por isso esta técnica é utilizada quando existem populações que apresentem variabilidade genética. Uma população pode apresentar variabilidade genética ocasionada por mistura de sementes de outras populações, por mutações genéticas ou cruzamentos naturais com plantas de diferentes genótipos. O principal uso desse método é na obtenção de novas variedades em espécies vegetais que ainda não foram muito trabalhadas geneticamente ou para caracteres de alta herdabilidade.

A fundamentação básica dos métodos de melhoramento da palma forrageira considera três fatores básicos: I) o plantio comercial da palma forrageira utiliza o método de propagação assexuada; II) a maioria das sementes botânicas é proveniente de via sexuada; III) as plantas obtidas destas sementes apresentam grande variação genética e oportunidade de seleção (Barrientos Perez, 1981).

É importante a definição de um programa de melhoramento que alie a seleção de clones que apresentem relevâncias agrônomicas e zootécnicas à resistência à cochonilha.

A palma se multiplica de forma vegetativa por estaquia de cladódios. A propagação sexual, através de sementes, apresenta problemas, dentre eles: a segregação genética, uma longa fase juvenil e uma baixa velocidade de crescimento.

### **Utilização da cultura de tecidos vegetais**

A fonte de material vegetativo para implantação da palma são as plantações comerciais, apesar dessas apresentarem as desvantagens de propagação de doença e falta de certificação genética. Além disso, a necessidade de grande quantidade de material demandada para implantação da cultura é um sério problema prático.

A limitação desse sistema de propagação pode ser superada pela utilização de tecnologias disponíveis, como a cultura de tecidos vegetais. O cultivo *in vitro* de tecidos vegetais apresenta grande aplicação na agricultura. No caso de plantas que se propagam de forma lenta, como a palma, é uma alternativa possível de ser utilizada para a multiplicação e difusão de cultivares promissores.

A cultura de tecidos vegetais fundamenta-se na teoria da totipotência vegetal, que considera que células vegetais manifestam, em momentos diferentes e sob estímulo apropriado, a potencialidade de iniciar um novo indivíduo multicelular (Kerbaui, 2004). Assim, utilizando fragmentos de tecidos vegetais, sob adequadas condições de assepsia, nutrição e fatores ambientais como luz, temperatura, oxigênio (O<sub>2</sub>) e gás carbônico (CO<sub>2</sub>), é possível a regeneração em planta inteira com as mesmas características das plantas originais.

Com o advento da biotecnologia, a técnica de micropropagação teve um forte impacto sobre a produção de plantas em larga escala, centenas de protocolos foram estabelecidos visando a produção comercial de mudas e a preservação de espécies vegetais ameaçadas de extinção. O estoque de plantas *in vitro* permite um fluxo contínuo de produção de mudas em todas as épocas do ano e possibilita a produção de brotos a partir de órgãos já desenvolvidos o que, em geral, não é conseguido em condições naturais de campo.

A propagação de plantas *in vitro* é constituída de quatro fases: estabelecimento dos explantes *in vitro*; multiplicação dos explantes; enraizamento das brotações e aclimatização de plantas (Hartmann et al., 2002). A fase de estabelecimento dos explantes tem como objetivo a obtenção de uma cultura isenta de patógenos. A fase de multiplicação visa estimular a produção do maior número possível de brotações. Para isso são utilizados reguladores de crescimento, geralmente auxinas, citocininas e giberelinas. Para o estímulo à formação de raízes, as brotações são transferidas para um meio de cultura específico de enraizamento, suplementado com

reguladores de crescimento, geralmente auxinas, como o ácido indolbutírico (IBA) e ácido naftalenoacético (ANA). A última fase, a aclimatização, consiste na adaptação da planta a um novo ambiente, onde não mais terá os nutrientes prontamente disponíveis do meio de cultura, iniciando-se assim, a fase de autotrofia (Grattapaglia & Machado, 1998).

Para o estabelecimento *in vitro* são necessários estudos de combinações ótimas de fatores (genótipo x fonte de explante x condições de cultivo) para que o processo seja bem sucedido. Llamoca-Zarate (1999) iniciou o desenvolvimento de protocolo para multiplicação *in vitro* da *Opuntia ficus-indica*. Vasconcelos et al. (2007) trabalharam na multiplicação da espécie *Nopalea cochenillifera*. A partir desses trabalhos foi possível identificar que um dos principais problemas na micropropagação da cultura é a etapa de multiplicação. O número de brotos obtidos tem se mostrado bem inferior às brotações de outros vegetais como o abacaxi (*Ananas comosus*) e a cana de açúcar (*Saccharum* spp.), que têm protocolos comerciais de micropropagação estabelecidos (Lorenzo et al., 1998; Silva et al., 2007).

Apesar da cultura de tecidos vegetais aplicar-se a várias espécies, os benefícios dessa tecnologia não foram totalmente explorados para as cactáceas. Encontram-se em desenvolvimento protocolos para a micropropagação de algumas espécies dessa família.

Nos últimos anos, estudos têm examinado os problemas relativos à qualidade fisiológica, genética e epigenética de plantas, células, tecidos e órgãos cultivados *in vitro*, tais como, ausência ou perda da capacidade organogênica, hiperidricidade e variação somaclonal. O estresse oxidativo tem sido apontado como um indutor dessas anomalias no cultivo *in vitro*. Um estresse severo pode resultar em variação somaclonal ou mutação, perda total da totipotência organogênica e morte da planta ou da célula (Camara et al., 2010).

Os protocolos estabelecidos para multiplicação da palma e crescimento dos brotos envolvem o cultivo sequencial dos explantes advindos de gemas axilares em meio semissólido, (Escobar et al., 1986; Llamoca-Zarate, 1999; Vasconcelos et al., 2007). Entretanto, o emprego comercial desta técnica é reduzido, em virtude dos altos custos de produção, principalmente com mão-de-obra, baixa taxa de multiplicação e perdas durante o processo.

Costa et al., (2010) analisaram a produção e composição química da palma forrageira Cv. Gigante, proveniente do cultivo *in vitro* e concluíram que as plantas devem ser transplantadas para o campo quando apresentarem tamanho superior a 30 cm, porque abaixo dessa altura a



produção de massa verde é reduzida. A composição química não é modificada em função do tamanho da planta e é semelhante as plantas provenientes do cultivo tradicional.

Para utilizar essa técnica com a finalidade de disponibilizar novos clones da cultura, existe a necessidade de aumentar a velocidade de multiplicação da mesma. Assim, novas alternativas de multiplicação acelerada, através da utilização do fracionamento de explantes *in vitro* e do sistema de imersão temporária vêm sendo estudadas para os diversos clones (Vasconcelos et al., 2010).

O objetivo da utilização da cultura de tecidos a partir da micropropagação, é produzir material vegetal adequado ao uso pretendido. Para tanto, alguns parâmetros de qualidade têm que ser destacados: o estado sanitário, fisiológico e a fidelidade genética do material micropropagado.

O acompanhamento da fidelidade genética desde o início e ao longo dos vários estágios do cultivo *in vitro* permite identificar as condições específicas de cultivo que induzem variação somaclonal. O termo variação somaclonal refere-se às variações que ocorrem nas plantas durante cultivo *in vitro* ou em plantas provenientes do mesmo. O variante pode ser consequência de alterações genéticas ou epigenéticas. Larkim & Scowcroft (1981) cunharam o termo variação somaclonal para descrever a ocorrência de variantes genéticas derivados de procedimentos *in vitro*. Fatores como fonte de explante, genótipo, duração do cultivo *in vitro* tipo e concentração de reguladores de crescimento e condições de cultivo, entre outros, podem induzir variabilidade *in vitro*.

O potencial da variação somaclonal e o melhoramento por mutações podem levar à obtenção de genótipos com diversas características desejáveis. Esses caminhos são utilizados com sucesso em outras culturas propagadas vegetativamente, mas até o momento, pouco foi feito em relação à palma forrageira (Villalobos, 2001).

Considerando que a duração e as condições de cultivo *in vitro* podem levar à ocorrência de variações somaclonais e que estas variações podem estar ligadas às características de resistência, é importante avaliar com certa frequência, se essa característica tem sido mantida, mesmo após o cultivo sequencial dos clones micropropagados.

### **Métodos estatísticos utilizados no melhoramento genético**

Experimentos de campo são essenciais nos programas de melhoramento genético e também no processo de recomendação de cultivares melhoradas. Nesses experimentos, são

desejáveis um alto grau de precisão experimental e, conseqüentemente, uma alta acurácia na inferência sobre as médias genótípicas, isto é, sobre os valores genóticos dos tratamentos genéticos em avaliação. Os ensaios de avaliação de cultivares devem ser abordados do ponto de vista genético e estatístico e não apenas sob a perspectiva estatística.

A avaliação de tratamentos genéticos em experimentos de campo tem dois objetivos: I) inferir sobre os valores genóticos desses materiais; II) ordená-los com base em seus valores genóticos para fins de seleção. O interesse, portanto, não está em estimar as suas médias fenótípicas, mas sim valores genóticos, isto é, médias futuras desses genótipos, quando estes forem cultivados novamente em plantios comerciais. Neste caso, mesmo que sejam no mesmo local ou região da experimentação, os efeitos de blocos e de parcelas muito provavelmente não se repetirão. Como tais efeitos estão embutidos, em alguma proporção, nas médias fenótípicas, isso demonstra que tais médias não são adequadas para a inferência sobre os valores genóticos. Assim, em trabalhos científicos e em catálogos de avaliação genética, a apresentação de médias fenótípicas não é desejável. Pelo contrário, deve-se buscar a apresentação das médias genótípicas (livres de efeitos ambientais), isto é, dos valores de cultivo e uso (VCU) propriamente ditos (Resende, 2002).

O estabelecimento de estratégias eficientes de melhoramento depende do conhecimento prévio dos mecanismos genéticos responsáveis pela herança do caráter a melhorar, tais como o número de genes que o governam, as ações e efeitos gênicos, herdabilidade, repetibilidade e associações genéticas com outros caracteres (Resende, 2002). Os parâmetros genéticos são valores numéricos que permitem inferir sobre a estrutura genética, os quais variam para diferentes caracteres, idades e populações (Duda, 2003). As estimativas dos parâmetros genéticos possibilitam prever os ganhos oriundos das estratégias alternativas aplicadas ao melhoramento genético, fornecendo informações importantes à seleção e para a definição do programa de melhoramento da população.

No caso dos testes genéticos, o fator de confiabilidade ótimo é função do coeficiente de determinação genotípica, associado ao caráter em avaliação, o que corresponderia, em um processo de seleção intrapopulacional, ao coeficiente de herdabilidade.

Caracteres com baixa herdabilidade demandarão métodos de seleção mais elaborados do que aqueles com alta herdabilidade. Por sua vez, altos valores de correlação genética entre parâmetros significam que a alteração em um caráter, via seleção, promove alterações

significativas em outros caracteres relacionados a ele. Outro parâmetro de extrema importância para as plantas perenes é o coeficiente de repetibilidade, o qual mede a capacidade de os organismos repetirem a expressão do caráter, ao longo de vários períodos de tempo, no decorrer de suas vidas. Eles permitem a determinação do número de medições necessárias para avaliar, precisamente, os valores genéticos aditivos, genotípicos ou fenotípicos permanentes dos indivíduos, além de possibilitar o uso de suas estimativas na predição de valores genéticos (Resende, 2002).

A herdabilidade é uma medida de proporcionalidade da variação total devida à natureza genética. Pode ser estimada pela razão entre a variância genética e a variância total (Allard, 1971; Falconer, 1987) observada no sentido amplo, expressa pela proporção de variância genética total em relação à variância fenotípica, ou no sentido restrito, determinada pelo quociente entre a variância genética aditiva e a variância fenotípica (Dudley & Moll, 1969; Falconer, 1987). Assim, o coeficiente de herdabilidade expressa a quantidade de variação genética em relação à variação fenotípica total.

Diferentes valores de herdabilidade podem ser encontrados para determinados caracteres de uma mesma espécie. Isto se deve, principalmente, aos diferentes métodos utilizados para a sua determinação, aos diferentes materiais genéticos, aos diferentes locais, à idade de avaliação (Xavier, 1996). Valores altos para as estimativas de herdabilidade indicam boas possibilidades de ganho nos estudos de melhoramento, pois o progresso esperado pela seleção depende diretamente da herdabilidade e da intensidade da seleção, inversamente ao desvio padrão fenotípico (Dudley & Moll, 1969). Assim, valores elevados de herdabilidade revelam que o controle genético pode ser alto e que mudanças no ambiente influenciam pouco o fenótipo (Shepherd, 1997).

Os valores genéticos são variáveis aleatórias não observáveis, preditas a partir dos valores fenotípicos observáveis, comumente usados nos programas de melhoramento de plantas. A sua predição pode ser feita de forma pontual ou intervalar, deve ser precisa e acurada, pois aumentam os ganhos pretendidos, diminuindo as possibilidades de erro na seleção. A predição pontual fornece os valores genéticos preditos, ao passo que a intervalar inclui os intervalos de confiança dos valores e dos ganhos genéticos, propiciando uma recomendação mais segura dos indivíduos envolvidos e, portanto, deve ser preferencial (Resende, 1999).

Para a avaliação genética são necessárias estimativas fidedignas dos parâmetros genéticos das populações-base (originais) não selecionadas e não endogâmicas, sob delineamento ótimo ou

adequado, visando a minimização da variância das estimativas. Os valores genéticos preditos, entretanto, não são iguais aos valores genéticos verdadeiros dos indivíduos. Conforme Vleck et al. (1987), a proximidade entre esses dois pode ser avaliada com base na estatística denominada acuidade (acurácia), a qual refere-se à correlação entre os valores genéticos preditos e verdadeiros dos indivíduos. A acuidade seletiva depende da herdabilidade e repetibilidade do caráter, da quantidade e qualidade das informações e dos procedimentos utilizados na predição dos valores genéticos. Como é uma medida associada à precisão na seleção, a acuidade é o principal elemento do progresso genético que pode ser alterado pelo homem, visando maximizar o ganho genético (Resende, 2002). A acuidade, também importante na comparação de métodos de seleção, pode ser utilizada como um indicativo da intensidade de utilização dos indivíduos, sendo que aqueles com altos valores genéticos preditos e com acuidade baixa, devem ser usados com ressalvas.

A predição de valores genéticos exige a prévia estimação dos componentes de variância e de parâmetros genéticos. De maneira genérica, a predição pode ser efetuada por três procedimentos e situações distintas: I) Melhor Predição – BP (“Best Prediction”) - iguais quantidades e precisões de informações associadas a todos os candidatos à seleção, nos quais as médias e variâncias são conhecidas ou estimadas com exatidão; II) Melhor Predição Linear – BLP (“Best Linear Prediction”) - diferentes quantidades e precisões de informações associadas a todos os candidatos à seleção, com médias e variâncias conhecidas ou estimadas com precisão; e III) Melhor Predição Linear Não-tendenciosa - BLUP (“Best Linear Unbiased Prediction”) - diferentes quantidades e precisões das informações associadas aos candidatos à seleção, sendo a variância conhecida ou estimada com precisão e a média não conhecida. Desta forma, o método BP utiliza os mesmos pesos (ponderadores das informações fenotípicas) para todos os indivíduos candidatos à seleção, ao passo que os métodos BLP e BLUP implicam na utilização de diferentes pesos para os candidatos à seleção. Dentre esses procedimentos, o BLUP é o mais completo e conduz à maximização do ganho genético, por ciclo de seleção (Resende, 1997a; 1997b).

A importância das estimativas de parâmetros genéticos pelo Método da Máxima Verossimilhança Restrita – REML (“Restricted Maximum Likelihood”) nos modelos mistos é que essa metodologia gera estimativas não tendenciosas dos parâmetros (Schaeffer, 1999). Outra grande vantagem desses modelos é que eles consideram a covariância genética entre as observações e ponderam os genótipos com desigual número de informações, na mesma ou em

diferentes gerações (Resende, 2002). Isso faz da avaliação genética (predição de valores genéticos) pelos modelos mistos um instrumento mais eficaz que o da avaliação partindo de estimativas pelo método dos mínimos quadrados, segundo Kennedy & Sorensen (1988), na seleção de genitores, famílias e árvores, pelo uso da informação da própria entidade ou de aparentados, avaliadas no mesmo ou em diferentes locais, épocas ou gerações (Resende, 1999). No modelo misto, os blocos, ambientes e tempo (anos avaliados) são efeitos fixos, constantes, que interferem na predição dos efeitos genéticos ou aleatórios, segundo Searle et al. (1992), tena necessidade de ajuste dos efeitos fixos no modelo.

A seleção de indivíduos ou progênes de uma população pode ser fenotípica, quando o valor fenotípico do caráter é o referencial, ou genotípica, quando baseada nos valores genéticos desses indivíduos. Valores genéticos aditivos, como aqueles estimados nos testes de progênes de meios-irmãos, são efeitos aleatórios. Estes podem ser obtidos pelo procedimento BLUP, que estima os efeitos fixos (médias de blocos) pelo método dos mínimos quadrados generalizados, considerando as variâncias, sendo esta a razão da maior acuidade (entendida como o quanto se confia que a estimativa seja próxima do valor verdadeiro). Ao mesmo tempo, o procedimento prediz os valores dos efeitos genéticos aleatórios e dos efeitos aleatórios não-correlacionados incluídos no modelo (Resende, 2002).

Indiferente ao modelo de predição BLP ou BLUP, os valores genéticos aditivos, no caso de variáveis aleatórias de progênes de meios-irmãos, dependem de estimativas exatas dos componentes de variância que podem ser obtidas por meio do método dos mínimos quadrados ordinários e por meio do método da máxima verossimilhança restrita (Searle et al., 1992). Para isso, podem ser utilizados métodos computacionalmente de menor demanda, como aquele desenvolvido por Henderson, baseados no método dos mínimos quadrados. No entanto, esse difere da tradicional análise de variância, pela sua possibilidade de trabalhar com baixos níveis de dados não balanceados. Nesse caso, os estimadores perdem algumas das propriedades desejáveis e são obtidos valores negativos de estimativas de componentes de variância, o que contraria a definição clássica de que variâncias são sempre positivas (Searle et al., 1992). Diante disso, o uso de modelos mistos associados aos métodos iterativos, como os de máxima verossimilhança, é mais indicado (Resende, 1999), os quais superam o aspecto negativo dos dados não balanceados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAGRI-CE, [2008], **Cochonilha do carmim**. Disponível em <<http://www.adagri.ce.gov.br/defesa-vegetal/cochonilha-do-carmim>>, Acesso em: 23/05/2009.
- AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. San Diego: Academic Press, 1988.
- AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 4 ed. San Diego: Academic Press, 1997.
- ALMEIDA, J.G. de. Cochonilha do carmim. **Jornal Gazeta de Alagoas**, 15 de maio de 2009.
- ALLARD, E.W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. São Paulo: Edgard Bucher, 1971, 381 p.
- ARAGÃO, C.A.; MALUF, W.R.; DANTAS, B.F. et al. Tricomas foliares associados à resistência ao ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch.) em linhagens de tomateiro com alto teor de 2-tridecanona nos folíolos. **Ciência Agrotécnica**. Edição Especial n. 14, p. 81-93. 2000
- BARBERA, G. História e importância econômica e agroecologia. In: BARBERA, G.; INGLESES, P. (Eds.). **Agroecologia, cultivos e usos da palma forrageira**. Paraíba: SEBRAE/PB, p.1-11, 2001.
- BARRIENTOS PEREZ, F. **El nopal (Opuntia spp). Su mejoramiento y utilización em México**. Metepec: CADAGEM, 1981. 20p.
- BEN SALEM, H.; NEFZAOU, A.; ABDOULI, H. et al. Effect of increasing level spinelles cactus (*Opuntia ficus-indica* var. *inermes*) on intake and digestion by sheep given straw-based diets. **J. Animal Science**, v.62, n.1, p.293-299, 1996.
- BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, 2001, 300p.
- BUENO, L.C.S.; MENDES, A.N.; CARVALHO, S.P. **Melhoramento genético de plantas: princípios e conceitos** 2º ed. Lavras-MG. UFLA. p.213 – 219, 2006.
- CAMARA, T.R.; WILLADINO, L; ALBUQUERQUE, C.C. Microrganismos assintomáticos do cultivo in vitro: natureza e riscos para o cultivo de plantas. In: PEREIRA, J.E.S. (Org.) **Contaminações microbianas na cultura de células, tecidos e órgãos de plantas**. 1ª ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v.1, p. 221-261, 2010.
- CARVALHO, S.P.; MORAES, J.C.; CARVALHO, J.G. [1999] Efeito do silício na resistência do sorgo (*Sorghum bicolor*) ao pulgão-verde *Schizaphis graminum* (Rond.) (Homoptera:

- Aphididae). **An. Soc. Entomol. Brasil** v.28, n.3 Londrina. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S030180591999000300017&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S030180591999000300017&script=sci_arttext&tlng=pt)> Acesso em: 28 de setembro de 2008.
- CAVALCANTI, V.A.L.B.; SENA, R.C.; COUTINHO, J.L.B. et al. Controle das cochonilhas da palma forrageira. **Boletim IPA Responde**, nº 39, p.1-2, 2001
- CHABOUSSOU, F. **Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos: a teoria da trofobiose**. 2ª ed. Porto Alegre: L & PM, 1987. 256 p.
- COSTA, M.R.G.F; CARNEIRO, M. do S. de S.; PEREIRA, E.S.; FEITOSA, J.V.; SALES, R. de O.; MORAIS NETO, L.B de; PEIXOTO, M.J.A. Produção e composição química da palma forrageira micropropagadas in vitro. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v11, n.4, p. 953-960 out/dez, 2010.
- CRUZ, I.; VENDRAMIM, J. D. Tolerância como mecanismo de resistência de sorgo ao pulgão-verde, *Schizaphis graminum* (Rond.) (Homoptera: Aphididae). **An. Soc. Entomol. Bras.** vol.27 no.1 Londrina, 1998.
- CUSTÓDIO, T.N.; BARBIN, D. Comparação de modelos mistos visando à estimação do coeficiente de herdabilidade para dados de proporções. **Revista de Matemática e Estatística**, v.23, n.2, p.23-31, 2005.
- CUTTER, E. **Anatomia vegetal: Parte I – Células e tecidos**. 2ª ed. São Paulo: Roca, 1986.
- DALE, J.E.; MILTHORPE, D.F.L. **The growth and functioning of leaves**. Cambridge: Cambridge University Press, 1986. 539p.
- DATAMÉTRICA, 2004 - **Projeto técnico relatório palma**. Disponível em <<http://www.pe.sebrae.com.br:8080/notitia/download/palma.pdf>>. Acesso em: 27/06/2008.
- DIZ, D.A.; SCHANK, S. C. Heritabilities, genetic parameters, and response to selection in pearl millet x elephantgrass hexaploid hybrids. **Crop Science**, v.35, p.95-101, 1995.
- DUBEUX JR. J.C.B; ARAUJO FILHO, J.T de; SANTOS, M.V.F dos; LIRA, M. de A.; SANTOS. D.C. dos; PASSOS, R. A. S. Adubação mineral no crescimento e composição mineral da palma forrageira clone IPA 20. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** v. 5, n.1, p. 129-135, jan-mar, 2010.
- DUDA, L.L. **Seleção genética de árvores de Pinus taeda L. na região de Arapoti, Paraná**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2003. 50p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Paraná, 2003.

- DUDLEY, J.W.; MOLL, R.H. Interpretation and use of estimation of heritability and genetic variances in plant breeding. **Crop Science**, v. 2, n. 3, p. 257-262, 1969.
- DUQUE, J.G. **O Nordeste e as lavouras xerófilas**. 3ª ed. Mossoró: Escola Superior de Agricultura de Mossoró/ Fundação Guimarães Duque. Coleções Mossorienses, 143, 1980, 316p.
- ESCOBAR, A.; VILLALOBOS A.; VILLEGAS M.A., Opuntia micropopagation by axillary proliferation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** Berlin v. 7, p.269-277, 1986.
- FALCONER, D. S. **Introdução a genética quantitativa**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1987, 279p.
- FANCELI, M.; VENDRAMIM, J.D.; LOURENÇÃO, A.L.; DIAS, C.TS. 2003. Atratividade e preferência para oviposição de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) biótipo B em genótipos de tomateiro. **Neotrop. Entomol.** 32: 319-328.
- FÉLIX da SILVA, C.C.; CARVALHO, L. [2006] Palma Forrageira (*Opuntia Ficus- Indica* Mill) como alternativa na alimentação de ruminantes. **Revista Electrónica de Veterinaria REDVET** ®, v. VII, nº 10 <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> Disponível em <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101006.html>. Acesso em: 01/09/2009.
- FLORES-FLORES, V.; TEKELENBURG, A; Produção de corante Dacti (*Dactylopius coccus*). In: Barbera, Guisepe; Inglese, Paolo (Eds.). **Agroecologia, cultivos e usos da palma forrageira**. Paraíba: SEBRAE/PB, p.169-183, 2001.
- GATEHOUSE, A.M.R.; BOULTER D.; HILDER, V.A. Biotechnology in Agriculture **Plant Genetic Manipula International**, n. 7, p.155-181, 1992.
- GATTAPAGIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDASs, L.S.; BUSO, J.A. (org) **Cultura de tecidos vegetais e transformação genética de plantas** Brasília: Embrapa, p.183-260, 1998.
- HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES JR., F.T. et al. **Plant propagation: principles and practices**. New Jersey: Prentice-Hall, 2002, 880p.
- KERBAUY, G.B. **Fisiologia Vegetal** Rio de Janeiro: Guanabara, 2004, 452p.
- KENNEDY, B.W.; SORENSEN, D.A. Properties of mixed model methods for prediction of genetic merit under different genetic models in selected and nonselected populations. In: WEIR, B. et al. (Ed.). **Second International Conference on Quantitative Genetics, Raleigh**, Proceedings... Raleigh: North Carolina State University, p. 47-56, 1988.
- LARA, F.M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. 2ª ed. São Paulo: Ícone, 1991, 336p.



- LOPES, E.B.; BRITO, C.H.de; ALBUQUERQUE I.C. et al. Seleção de genótipos de palma forrageira (*Opuntia* spp.) e (*Nopalea* spp.) resistentes à cochonilha do carmim (*Dactylopius opuntiae* Cockerell,1929) na Paraíba, Brasil. **Engenharia Ambiental** - Espírito Santo do Pinhal, v. 7, n. 1, p. 204-215, jan. /mar . 2010.
- LORENZO, J.C.; GONZALES, B.L.; ESCALONA, M. et al. Sugarcane shoot formation in an improved temporary immersion system. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.54, p.197-200, 1998.
- LLAMOCA-ZÁRATE, R.M. **Cultura de tecidos e transformação genética da palma forrageira *Opuntia fincus-indica* Mill.** Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 1999. 178p. Tese (Doutorado em 1999). Universidade Federal do Ceará, 1999.
- MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. 2<sup>a</sup> ed. San Diego: Academic Press, 1995, 889 p.
- MICHEREFF, S.J. **Fundamentos de Fitopatologia**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2001, 172 p.
- PAINTER, R.H. **Insect resistance in crops**. Lawrence: The University Press of Kansas, 1968, 520 p.
- PASCCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMINI-FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia**. v.I. Princípios e Conceitos, 3<sup>a</sup> ed. São Paulo: Agronômica Ceres Ltda, p. 417-453, 1995.
- PEREIRA, A.V. Avanços no melhoramento genético de gramíneas forrageiras tropicais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39. 2002. Recife, **Anais...**, Recife: SBZ/UFRPE, P. 19-41, 2002.
- PEREIRA, M. **Propagação via estacas apicais, caracterização morfológica e molecular de jabuticabeiras (*Myrciaria* spp.)**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2003, 86p. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2003.
- PESSOA, A.S. **Cultura da palma forrageira**. Recife: Sudene - Divisão de documentação (Agricultura 5), 1967, 98p.
- PINHEIRO, M.M.; SANDRONI, M.; LUMMERZHEIM, M. et al. A defesa das plantas contra as doenças. **Revista Ciência Hoje**, 147, 1999.
- RESENDE, M.D.V. de. Avanços da biométrica florestal. In: ENCONTRO SOBRE TEMAS DE GENÉTICA E MELHORAMENTO, 1997, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, p. 20-46, 1997a.

- RESENDE, M.D.V. de. Melhoramento genético de essências florestais. In: SANTOS, J. B. SIMPÓSIO SOBRE ATUALIZAÇÃO EM GENÉTICA DE PLANTAS. **Anais...** Universidade Federal de Lavras, 1997b, p. 59-93.
- RESENDE, M.D.V. de. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília/Colombo: Embrapa Informação Tecnológica/ Embrapa Florestas, 2002, 975 p.
- RESENDE, M.D.V. de. Melhoramento de essências florestais. In: BORÉM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa, MG: UFV, p. 589-648, 1999.
- RIBEIRO, M. [2009] Pesquisa desenvolve tecnologias para o controle da cochonilha-do-carmim em palma. **JB ON LINE**. Disponível em <<http://www.campoecriacao.com.br/site/index.php?p=noticia&id=9299>>. Acesso em: 28/08/2009.
- SANTOS, D.C. dos; FARIAS, I; LIRA, M. de A. et al. **Manejo e utilização da palma forrageira (*Opuntia e Nopalea*) em Pernambuco**. Recife: IPA (IPA- Documento 30), 2006a, 48p.
- SANTOS, D.C. dos; LIRA, M.A.; FARIAS, I. et al.- Seleção de clones de palma forrageira resistentes à cochonilha do carmim *Dactylopius sp.*, em condições de campo. In: 43 Reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 43, 2006, João Pessoa-PB **Anais...** João Pessoa: SBZ, 2006b. CD Rom v. Único
- SANTOS, D.C.; LIRA, M.A.; FARIAS, I. et al. da. Selection of forage cactus pear genotypes resistant to the carmine cochineal. In: VI International Congress on Cactus Pear and Cochineal, VI, 2007, João Pessoa-PB **Resumos...** João Pessoa: UFPB/FAO, 2007. CD Rom v. Único
- SANTOS, M.V.F. dos; LIRA, M.A.; DUBEUX JR., J.C.B. et al. Palma Forrageira, In: FONSECA, D. M. da; MARTUSCELLO, J. A. **Plantas Forrageiras**, Viçosa, MG: Ed. UFV, p. 459-492, 2010.
- SCHAEFFER, L.R. [1999] **Linear Models**. Disponível em <<http://aps.uoguelph.ca/~Irs/animalz/lesson8/>>. Acesso em: 12/05/2009.
- SEARLE, S.R.; CASELLA, G.; MCCULLOCH, C.E. **Variance components**. New York: J. Wiley, 1992, 528 p.
- SHEPHERD, R.K. Three-tier open nucleus breeding schemes. **Animal Science**, v. 65, p. 321-324, 1997.
- SILVA, A.B. da; PASQUAL, M.; TEIXEIRA, J.B. et al., Métodos de micropropagação de abacaxizeiro **Pesquisa Agropecuária Brasileira** Brasília, v.42, n.9, p.1257-1260, 2007.
- SILVEIRA, R.L.V.A.; MUNIZ, M.R.A.; SILVA, C.R. et al. [2001]. **Aspectos nutricionais envolvidos na ocorrência de doenças com ênfase para a ferrugem (*Puccinia psidii*) do**

**eucalipto**. Disponível em <<http://www.rragroflorestal.com.br/divulgaçao/ferrugem.pdf>>. Acesso em: 14/09/2009.

TEIXEIRA, A.S. **Alimentos e alimentação dos animais**, 5ª ed. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001.

TORRES, L.C.L.; FERREIRA, M. de A.; GUIM, A.; VILELA, M. da S., GUIMARAES, A.V.; SILVA, E.C.da. Substituição da palma gigante por palma miúda em dietas para bovinos em crescimento e avaliação de indicadores internos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.11, p. 2264-2269, 2009.

VASCONCELOS, A.G.V. de; LIRA, M. de A.; CAVALCANTI, V.A.L.B. et al. Micropropagação de palma forrageira cv. Miúda (*Nopalea cochenillifera* - Salm Dyck). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** v.2, n.1, p.28-31, 2007.

VASCONCELOS, A.G.V. de; LIRA, M. de A.; CAVALCANTI, V.A.L.B. et al. Seleção de clones de palma forrageira resistente à cochonilha do carmim (*Dactylopius sp.*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.5, p.827-831, 2009.

VASCONCELOS, A.G.V. de; DONATO, V.M.T.S.; BRITO, J.Z. de; LIRA, M. de A.; Cultura de tecidos vegetais: técnicas utilizadas para multiplicação acelerada da palma forrageira. In: FIGUEIREDO, M do V.B. et al. Biotecnologia aplicada à agricultura : textos de apoio e protocolos experimentais. Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica ; Recife, PE : Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA), 2010. p.653-678

VIANA, P.A; POTENZA, M.R. Avaliação de antibiose e não-preferência em cultivares de milho selecionados com resistência à lagarta do cartucho. **Bragantia** Campinas, 59 (1), p. 27-33, 2000.

VIEIRA, E.L. **Adição de fibra em rações à base de palma forrageira para caprinos**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2006. Tese (Doutorado em Zootecnia) Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2006.

VILLALOBOS, V.M.A. Aplicação do cultivo de tecidos para a micropropagação de Opuntias In: **Agroecologia, Cultivo e Utilizações da Palma Forrageira** Sebrae-PB, 2001.

VLECK, L.D. van.; POLLAK, E.J.; OLTENACU, E.A.B. **Genetics for the Animal Sciences**. New York: W. H. Freeman, 1987, 391 p.

WARUMBY, J.F.; ARRUDA FILHO, G.P.; ARRUDA, C.M.F. et al. Produção de carmim de cochonilha. In: MENEZES, R.S.C.; SIMÕES, D.A.; SAMPAIO, E.V.S.B. (org). **A palma no nordeste do Brasil – Conhecimento atual e novas perspectivas de uso**. Recife: Editora Universitária – UFPE, P. 223-237, 2005.

XAVIER, A. **Aplicação de análise multivariada da divergência genética no melhoramento de Eucalyptus spp.** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1996, 126p. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) Universidade Federal de Viçosa, 1996.

## **CAPITULO 2**

# **RESISTÊNCIA À COCHONILHA DO CARMIM EM DIFERENTES ESPÉCIES DE PALMA FORRAGEIRA PROVENIENTES DO CULTIVO IN VITRO**

## RESUMO

A cochonilha do carmim (*Dactylopius opuntiae*) é uma praga que tem ocorrido nos palmais do Nordeste brasileiro, promovendo grandes perdas para o produtor. O objetivo desse trabalho foi avaliar a resistência à cochonilha do carmim em plantas de diferentes espécies de palma forrageira cultivadas in vitro e analisar as características morfológicas entre espécies. Plantas dos clones Orelha de Elefante Mexicana (*Opuntia stricta* Haw), IPA Sertânia (*Nopalea cochenillifera* - Salm Dyck) e Gigante (*Opuntia ficus-indica* Mill), provenientes da micropropagação, foram submetidas à infestação artificial com ninfas da cochonilha. Após 150 dias de crescimento, as plantas do terceiro subcultivo in vitro foram retiradas dessa condição, colocadas individualmente sobre papel de filtro em frascos com capacidade de 250 mL e mantidas em condição ambiente. Foram colocadas 15 ninfas da cochonilha por explante. Aos sete, 14, 21, 28 e 35 dias após a infestação, realizou-se observações da fixação dos insetos sobre as plantas. Amostras das plantas foram colocadas em fixador FAA 50 e confeccionadas lâminas histológicas. Mediu-se a área da epiderme e parênquima dos cortes. Verificou-se que nenhuma ninfa estabeleceu-se sobre os clones Orelha de Elefante Mexicana e IPA Sertânia e que 65% das plantas do clone Gigante estavam mortas aos 35 dias em decorrência dos danos causados pelas cochonilhas. Não houve mortalidade de nenhum explante dos materiais considerados resistentes. Foi verificada diferença significativa para espessura da epiderme, sendo o clone Gigante o que apresentou maior espessura. Dessa forma, não se comprova a teoria de que a resistência à cochonilha do carmim está relacionada ao aspecto anatômico de espessura da epiderme.

Palavras-chaves: cultura de tecidos, *Dactilopius*, forrageiras, *Nopalea*, *Opuntia*

### ABSTRACT

The carmine cochineal is a plague that has abated over palm trees of Brazilian Northeast, with considerable losses for farmers. The aim of this study is to evaluate the resistance of pear seedlings plants grown in vitro to the carmine cochineal, as well as to analyze the anatomical characteristics between pear seedlings species. Explants from the clones of “Orelha de Elefante Mexicana” (*Opuntia stricta* Haw), “IPA Sertânia” (*Nopalea cochenillifera* - Salm Dyck) and “Gigante” (*Opuntia ficus-indica* Mill), originated from sequential micro-propagation, were submitted to artificial infestation with *Dactylopius opuntiae* cochineal nymphs, for proving the resistance to this plague. After 150 days of growth, the explants of the third sub-cultivation in vitro were removed from the in vitro condition and individually placed on filter paper, in bottles of 250 ml capacity, and maintained in environmental conditions. There were 15 nymphs of the cochineal per explant. The observations about the fixation of the insects on the explants were made at 7, 14, 21, 28 and 35 days after infestation. Explant samples were immersed on FAA 50 fixator, to produce histological blades. Epiderm and parenchyma areas were sized from the samples. It was found that no nymphs appeared on the “Orelha de Elefante Mexicana” and “IPA Sertânia” clones, and that 65% of the explants of the “Gigante” clone were dead by 35 days because of the damage caused by the cochineals. There was no mortality of any explant from the considered resistant material. There were significant differences in epidermal thickness, with the clone “Gigante” having the highest thickness, which contradicts the theory that resistance to cochineal carmine is related to anatomy.

Keywords: tissue culture, *Dactylopius opuntiae*, forage, *Nopalea*, *Opuntia*, semiarid

## INTRODUÇÃO

A resistência às pragas e doenças atualmente é uma característica determinante na seleção de uma variedade de palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*), tendo em vista que a partir do ano 2000, tem se constatado decréscimo considerável da produção dessa cultura em função do aumento de danos causados por pragas e doenças. A cochonilha do carmim (*Dactylopius opuntiae*) é atualmente a principal praga da cultura na região Nordeste do Brasil. Estimativas realizadas por órgãos de pesquisa indicam a mortalidade de cerca de 100 mil hectares, de um total de 500 mil hectares implantados com a palma forrageira na região (Ribeiro, 2009; Santos et al., 2010).

As plantas exibem uma variedade de estratégias e modificações a fim de reduzir a perda de tecido fotossintético em decorrência do ataque de insetos (Melo & Silva Filho, 2002). As defesas podem ser constitutivas, quando a planta expressa resistência de forma contínua, sem depender da ação de herbívoros, ou induzidas, quando a resistência se expressa somente após a injúria, em alguns minutos, horas ou decorrido um ciclo de cultivo (Almeida-Cortez, 2005).

As defesas físicas ou morfológicas, as quais atuam negativamente sobre o inseto, podem ser depósitos cuticulares, epiderme espessada, abundância de cristais, tricomas, fibras na folha (Lucas et al., 2000). As defesas químicas, que são metabólitos tóxicos e/ou repelentes, atuam minimizando o dano e reduzindo a palatabilidade (Fadini et al., 2004, Aragão et al. 2000).

A planta sintetiza compostos como lignina, cutina, fenóis, terpenóides e alcalóides que lhe conferem resistência. A maturidade da planta exerce grande influência sobre a espessura da parede celular das células epidérmicas (Carvalho & Pires, 2008). A deposição de lignina aumenta com a maturação fisiológica e diminui a digestibilidade dos polissacarídeos estruturais

(Deschamps, 1999). As células da epiderme formam uma camada que reveste a superfície do corpo vegetal em estágio primário. Elas apresentam várias características relacionadas com a sua posição superficial. A característica distintiva mais importante das células epidérmicas das partes aéreas das plantas é a presença de cutina na parede celular externa e a cutinização destas e de algumas outras paredes que podem fornecer proteção mecânica e está relacionado com a restrição da transpiração e com a aeração (Carvalho & Pires, 2008).

Trabalhos de seleção de clones de palma forrageira visando resistência à cochonilha do carmim (Santos et al., 2006; Santos et al., 2007; Vasconcelos et al., 2009) identificaram que as cultivares Miúda (*Nopalea cochenillifera* - Salm Dyck), Orelha de Elefante Mexicana (*Opuntia stricta* Haw) e Orelha de Elefante Africana (*Opuntia sp.*) apresentam resistência a essa praga e recomendam a utilização desses clones na implantação da cultura, principalmente nas regiões de ocorrência da praga. Entretanto, a implantação desses clones pelos agricultores ainda não vem sendo realizada em larga escala.

O cultivo in vitro tem sido utilizado como alternativa para acelerar a multiplicação de clones promissores de palma forrageira (Escobar et al., 1986; Vasconcelos et al., 2007). O objetivo da micropropagação é produzir material vegetal adequado ao uso pretendido. Para tanto, alguns parâmetros de qualidade têm que ser destacados: o estado sanitário, fisiológico e a fidelidade genética do material micropropagado. Entretanto, o cultivo sequencial in vitro pode levar à ocorrência de variação somaclonal, que trata-se de variações que ocorrem nas plantas durante cultivo in vitro ou em plantas provenientes do mesmo. Os variantes somaclonais podem ser classificados em diversas categorias como variantes morfológicos, fisiológicos, genéticos, bioquímicos, entre outros (Rani & Raina, 2000; Zhao, 2006). Esse processo, caso ocorra durante a multiplicação in vitro, pode levar à perda de algum gene importante que confere características desejáveis como, por exemplo, gene de resistência a alguma praga.



A estrutura e a morfologia interna das plantas micropropagadas são, inicialmente, muito diferentes daquelas cultivadas em condições de campo. Essa variação na anatomia ou ultra-estrutura pode afetar o processo de fotossíntese à medida que as organelas as quais apresentam capacidade autotrófica não estão bem desenvolvidas e, conseqüentemente, existe dificuldade para aclimatização (Guerra & Nodari, 2006). A avaliação das mudanças estruturais que ocorrem em um tecido ou órgão formado em condições *in vitro* é de grande valia para se descobrir a real eficiência do processo organogênético, além da funcionabilidade do novo órgão, tornando-se prerequisite indispensável para o desenvolvimento de protocolos de micropropagação de plantas (Soares, 2003).

Variações na luminosidade e sazonalidade, associadas à idade e à altura da inserção da folha na copa da planta, presença de tricomas, cutícula espessada, esclerênquima, maior dureza da folha devido à espessura foliar, da epiderme e do parênquima paliçádico e metabólitos secundários influenciam as taxas de herbivoria foliar (Lucas et al., 2000; Almeida-Cortez, 2005). Dessa forma, é possível que plantas provenientes do cultivo *in vitro* não apresentem resistência ao período de aclimatização.

Como a multiplicação *in vitro* de palma forrageira resistente à cochonilha do carmim vem sendo utilizada no processo de aceleração de produção de mudas, torna-se importante provar se a resistência verificada nos trabalhos de seleção de campo se expressa nas plantas provenientes do cultivo *in vitro*. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar a resistência à cochonilha do carmim em plantas de palma forrageira cultivadas *in vitro* e analisar as características morfológicas entre as espécies.

## MATERIAL E MÉTODOS

O cultivo *in vitro* foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, localizado na sede do Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, em Recife, PE. Foram utilizados clones de três espécies de palma forrageira: Gigante (*Opuntia ficus-indica* Mill), Orelha de Elefante Mexicana (*Opuntia stricta* Haw) e IPA Sertânia (*Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck).

Cladódios jovens (medindo entre 5 e 8 cm de comprimento) provenientes de plantas cultivadas em casa de vegetação na sede do IPA, foram lavados com água e detergente e submetidos à imersão em álcool etílico a 70%, por um minuto, seguida de imersão em solução de Hipoclorito de Sódio a 2%, por 10 minutos e lavados por três vezes com água destilada autoclavada, já em ambiente estéril (câmara de fluxo laminar). Após essas etapas, retiraram-se explantes de aproximadamente 5mm<sup>3</sup>, contendo uma auréola que foram estabelecidos do meio de indução.

O meio de indução e multiplicação utilizados neste trabalho consistiu no meio de cultura semi-sólido MS completo (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP (Benzilaminopurina) e 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de AIA (Ácido Indolacético), corrigido o pH para 5,7 e gelificado com 6,5 g.L<sup>-1</sup> de ágar-ágar (Vasconcelos et al., 2007). A condição da sala de crescimento onde o experimento foi conduzido é temperatura de 27 ± 2°C e luz fluorescente com intensidade de 90 a 110 μmols m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, com fotoperíodo de 16 horas.

Foram realizados sub-cultivos a cada 50 dias. Após 150 dias de cultivo *in vitro*, 20 plantas de cada uma das espécies, com aproximadamente 4,0 cm de comprimento e 0,5 cm de largura, foram retiradas do meio de cultura, lavadas com água destilada, secas sob papel toalha, colocadas em frascos de vidro com papel filme no fundo e transferidas para o Laboratório de Entomologia

do IPA, para início do processo de seleção quanto à resistência à cochonilha do carmim, onde permaneceram por 42 dias até o final do experimento. A temperatura e umidade do ambiente foram monitoradas por meio de termo-higrômetro digital. Foram colocados sensores no interior dos frascos e no ambiente externo e as leituras foram realizadas semanalmente.

A infestação artificial consistiu na transferência de 15 ninfas para cada uma das plantas, as quais foram mantidas individualmente nos frascos de vidro, tampadas com tela e mantidas sobre bancadas, em condição ambiente. No quinto dia após a infestação, foi colocada em cada frasco uma bola de algodão com água destilada para umedecer as plantas. Essa mesma bola de algodão foi umedecida semanalmente, na sequência das avaliações.

Foram realizadas avaliações aos sete, 14, 21, 28 e 35 dias após a infestação. Em cada uma das avaliações contaram-se as ninfas fixadas sobre as plantas, estimando-se dessa forma a percentagem de ninfa sobrevivente em cada um dos tratamentos. Durante todo o período experimental todas as plantas foram observadas. Uma planta de cada espécie foi marcada e fotografada semanalmente para acompanhar possíveis mudanças, em função do processo de aclimatização e sintomas decorrentes do ataque da cochonilha. Na última avaliação, aos 35 dias, contaram-se também as plantas que morreram durante o período experimental.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos e vinte repetições. A unidade experimental consistiu de um frasco com capacidade para 250 mL com um explante de palma forrageira infestado com 15 ninfas. Os resultados obtidos foram transformados (Raiz quadrada de  $X + 1$ ) e analisados estatisticamente através da análise de variância pelo programa ASSISTAT Versão 7.5 beta (Silva & Azevedo, 2006) e a comparação de médias realizadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A caracterização anatômica do material foi realizada no Laboratório de Anatomia de Plantas Forrageiras, localizado no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. Amostras formadas por cinco plantas de cada um dos clones foram colocadas em fixador FAA 50 (formol a 40%, álcool a 50% e ácido acético glacial 40%), em uma proporção aproximada do volume do fixador/volume de tecido vegetal, de 20 a 30 vezes (Johansen, 1940).

Os explantes foram submetidos à série alcoólica progressiva para desidratação, segundo metodologia de Johansen (1940). Após inclusão em "paraplast", os fragmentos foram seccionados transversalmente a 8 µm com uso de micrótomo rotatório, submetidos a dupla coloração com azul de metileno e safranina, seguindo a metodologia descrita por Kraus e Arduin (1997), com montagem de lâminas permanentes das seções transversais do cladódio com indicação dos tecidos avaliados.

O estudo morfométrico dos tecidos foi feito com auxílio de microscópio de luz e do Software de Análise de Imagens, modelo Morfometria de Image – Leb 2000. Na lâmina foliar foram medidas as áreas das epidermes e parênquima. Os cortes foram padronizados quanto ao tamanho para evitar distorções inerentes as medições. O registro das imagens foi realizado copiando-se as imagens armazenadas na memória do computador para um CD-ROM.

O delineamento experimental utilizado para os estudos morfométricos foi inteiramente casualizado, com dez repetições. Os resultados referentes à mensuração da epiderme e parênquima foram submetidos à análise de variância através do programa ASSISTAT Versão 7.5 beta (Silva & Azevedo, 2006) e a comparação de médias realizadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação às condições ambientais dentro e fora do frasco durante o experimento (Tabela 1), pode-se constatar que não foram registrados extremos de temperatura e umidade e esses valores se assemelham aos verificados nas regiões onde há a ocorrência natural do inseto. O aumento da umidade no ambiente interno foi decorrente da colocação de algodão umedecido para manter as plantas vivas.

Tabela 1 – Temperaturas e umidade relativa médias observadas durante o período de infestação dos clones de palma forrageira com a cochonilha *Dactylopius opuntiae* no laboratório (ambiente externo) e no interior do pote (ambiente interno)

Característica	Ambiente interno	Ambiente externo
Temperatura Média °C	29,7	30,6
Temperatura Mínima °C	26,0	26,7
Temperatura Máxima °C	33,4	34,7
Umidade Média %	60,0	58,0
Umidade Mínima %	34,0	50,0
Umidade Máxima %	88,0	67,0

Quanto à infestação pela cochonilha do carmim, constatou-se que não houve fixação de ninfas sobre os clones considerados resistentes, IPA Sertânia e Orelha de Elefante Mexicana (Tabela 2). O final das observações foram aos 35 dias pós infestação, porque nessa data a mortalidade das plantas do clone Gigante apresentava-se superior a 65%. Foram consideradas mortas as plantas que não apresentavam nenhuma parte verde.

Tabela 2 – Número de ninfas fixadas e percentual de sobrevivência das ninfas de *Dactylopius opuntiae* sobre brotos de palma forrageira 28 dias após infestação

Clone	Número de ninfas	Sobrevivência (%)
<i>Nopalea cochenillifera</i>	0,0a	00,0a
<i>Opuntia stricta</i>	0,0a	00,0a
<i>Opuntia ficus indica</i>	5,2b	34,66b
CV %	83,9	83,9

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Esse resultado indica que apenas o clone Gigante permitiu a fixação e sobrevivência de ninfas. De acordo com Lara (1991), existem diferentes graus de resistências, variando de acordo com a resposta da planta ao ataque do inseto. Assim, as plantas podem ser classificadas como: imunes, altamente resistentes, com resistência moderada, susceptíveis ou altamente susceptíveis. Os clones IPA Sertânia e Orelha de Elefante Mexicana podem ser considerados imunes, pois não permitiram o desenvolvimento do inseto em nenhum dos explantes. Passos da Silva et al. (2009) também comentaram sobre a resistência apresentada por esses dois clones ser do tipo imunidade.

Pesquisa realizada em condições de campo (Santos et al., 2006) constatou o mesmo resultado para os clones IPA Sertânia e Orelha de Elefante Mexicana. No trabalho de Vasconcelos et al. (2009) foram avaliados 20 clones em condições controladas e o clone Miúda juntamente com Orelha de Elefante Africana foram identificados como resistentes.

A análise estatística descritiva dos dados obtidos para o clone Gigante (Tabela 3) ao longo das avaliações mostra que o número de colônias de cochonilha na palma susceptível se manteve estável a partir do sétimo dia, após infestação das ninfas até o 28<sup>o</sup> dia. Na avaliação realizada 35

dias após a infestação, constatou-se a morte de 13 plantas em decorrência da infestação, por esse motivo, não foram utilizados na análise das médias de fixação ao longo das observações.

Tabela 3 – Estatística descritiva para média de ninfas fixadas por plantas do clone Gigante, referente às observações ao longo do experimento (médias de 20 repetições)

Data Observação	*Média de ninfas fixadas por plântula	CV %
7 dias pós infestação	5,25 ± 1,86	75,65
14 dias pós infestação	4,95 ± 1,8	77,96
21 dias pós infestação	5,00 ± 1,75	74,83
28 dias pós infestação	4,95 ± 1,71	74,00

\* intervalo de confiança a 5%

O clone Gigante apresentou, aproximadamente, o mesmo número de colônias por planta do sétimo ao 28<sup>o</sup> dia após infestação. Isso demonstra que é possível reduzir o período de observação, o que simplifica a metodologia de avaliação.

Verificou-se que os insetos que sobreviveram até o 35<sup>o</sup> dia não conseguiram concluir as fases biológicas da espécie. Esse fato está, provavelmente, relacionado ao tamanho dos explantes, originários do cultivo in vitro, os quais promoveram limitação no suprimento de substrato para os insetos. Esses resultados são semelhantes aos observados por Passos da Silva et al. (2009), os quais avaliaram com o prazo final de observação aos 21 dias. De acordo com Flores-Hernández et al. (2006), o ciclo biológico da *Dactylopius opuntiae* é de 77 dias para as fêmeas e 43,3 dias para os machos.

Um grande número de plantas micropropagadas não sobrevivem quando são transferidas das condições in vitro para o ambiente externo. Entre os problemas citados para essa mortalidade

estão a baixa capacidade fotossintética, desidratação, absorção de nutrientes e suscetibilidade a doenças. No presente trabalho não foi realizado nenhum processo de aclimatização das plantas que saíram da condição *in vitro*, diretamente para os frascos nos quais foram infestadas com as ninfas das cochonilhas. No estágio de aclimatização, as plantas sofrem uma mudança drástica, quando são removidas dos frascos nos quais a luz e as trocas gasosas são limitadas e existe grande disponibilidade de açúcar. Essa passagem faz com que se convertam de heterotróficas para autotróficas, com grande gasto de energia. Além disso, ao serem expostas a um ambiente com alta luminosidade e baixa umidade relativa, a taxa de transpiração aumenta, surgindo um déficit hídrico na planta. Apesar de não ter passado por nenhum processo de aclimatização, 100 % das plantas nas quais não houve fixação de nenhuma ninfa sobreviveram ao período experimental, demonstrando a resistência da palma forrageira às condições adversas.

A partir da terceira semana, as plantas sensíveis começaram a apresentar os sintomas do ataque: amarelecimento e, em seguida, morte. Na quinta semana, constatou-se a morte de 13 brotos do clone Gigante, todas com infestação comprovada pela cochonilha. Não se observou a morte de nenhuma planta das espécies resistentes. A morte das plantas não foi determinada pelo número de colônias das cochonilhas fixadas, desde que o mesmo fosse superior a dois.

Segundo Silva (2006), a utilização de metodologias que possibilitem avaliações eficientes, rápidas e confiáveis é importante na identificação de genótipos superiores. A metodologia utilizada neste trabalho possibilitou a identificação dos clones resistentes a partir do 14<sup>o</sup> dia de infestação, quando a fixação das ninfas já era visível a olho nu (Figura 1).



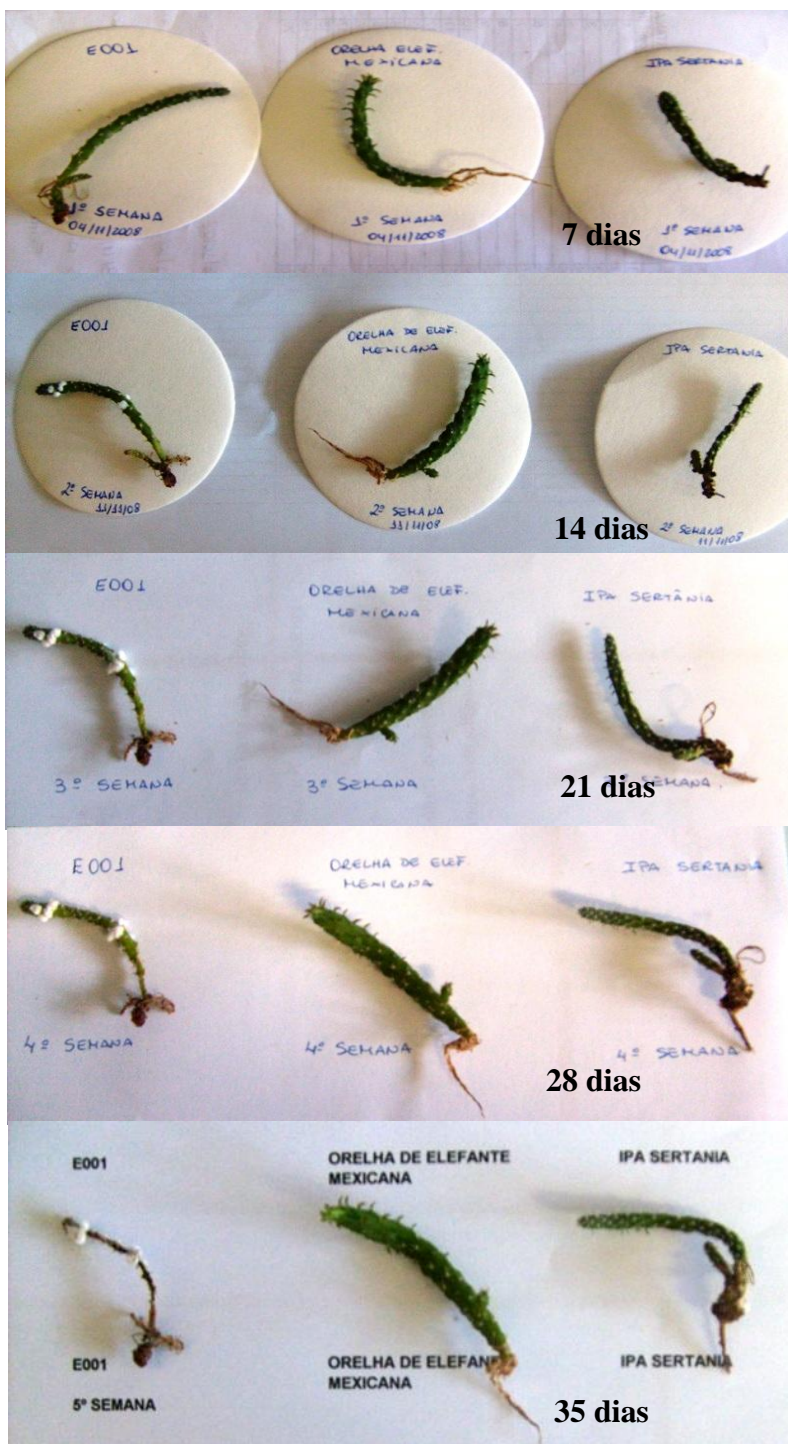


Figura 1 – Plantas de palma forrageira dos clones Gigante (E001), Orelha de Elefante Mexicana e Ipa Sertânia, aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias, após infestação com ninfas de cochonilha do carmim.

Para a espessura da epiderme, verificou-se que houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os clones, com destaque para o clone Gigante, o qual apresentou, na fase de plântula, espessura maior que os clones Orelha de Elefante Mexicana e IPA Sertânia (Tabela 4). Não foi verificada a presença de cutícula nos clones avaliados. Esse resultado contradiz o encontrado por Silva et al. (2010), o qual atribuíram ao espessamento da epiderme e cutícula a maior resistência à cochonilha do carmim em plantas de palma adultas, cultivadas em campo.

Lopes et al. (2010) relataram que, após a retirada da cutícula de genótipos resistentes, verificou-se que as colônias não se fixaram sobre os cladódios, atestando, dessa forma, que a resistência não estaria presente na cutícula, como relatado em trabalhos anteriores (Silva et al., 2010).

Tabela 4 - Espessura ( $\mu\text{m}$ ) da epiderme dos clones de palma forrageira na fase de plântula, provenientes do cultivo in vitro.

Clone	Espessura da epiderme ( $\mu\text{m}$ )
<i>Opuntia ficus indica</i>	49,00a
<i>Nopalea cochenillifera</i>	40,50ab
<i>Opuntia stricta</i>	30,50b
CV %	13,95

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados verificados para espessura são bem inferiores aos encontrados por Silva et al. (2010), que analisando plantas provenientes do campo, encontraram espessura da epiderme variando entre 117,33 a 220,50  $\mu\text{m}$ . Segundo Rezende (2008), plantas cultivadas ex vitro

apresentaram espessuras superiores as do cultivo in vitro em todos os tecidos. Folhas de plantas cultivadas ex vitro apresentaram cutícula e esclerênquima que são ausentes nas folhas in vitro (Abbade et al., 2009).

Em revisão de literatura sobre esse tema, foram observadas diferenças anatômicas entre os tecidos de folhas provenientes do cultivo in vitro e ex vitro por diversos autores que compararam as anatomias dessas folhas em espécies como mama-cadela (*Brosimum gaudichaudii*) (Fidelis et al., 2000), ingá (*Inga vera*) (Soares, 2003), ipê branco (*Tabebuia roseo alba* (Ridl.) Sand.) (Abbade et al., 2009), abacaxi (Barboza et al., 2006), entre outras.

Em estudos histológicos de órgãos vegetativos de plantas propagadas in vitro foi verificado que eles apresentavam estruturas pouco diferenciadas, quando comparados com plantas cultivadas em ambiente controlado ou natural (Fidelis et al., 2000).

No ambiente natural, a alta intensidade luminosa contribui para o espessamento foliar e a alongação do parênquima paliçádico (Castro, 2002). Folhas de plantas crescidas em ambientes ensolarados apresentam taxa fotossintética mais elevada, são menores, mais pesadas e mais espessas por unidade de área, em comparação com plantas crescidas à sombra (Boardman, 1977; Bjorkman, 1981). O aumento na espessura da folha, especialmente pelo alongamento ou adição de células paliçádicas, está relacionado à redução na resistência do mesofilo ao dióxido do carbono (Nobel, 1977) e correlacionado com o aumento de fatores potencialmente limitantes à fotossíntese, como a RuBisco, carregadores de elétrons ou condutância estomatal (Bjorkman, 1981).

Quanto à análise das estruturas anatômicas para o clone Orelha de Elefante Mexicana, verificou-se que as células da epiderme apresentam-se desorganizadas (Figura 2A). Não foi observada boa formação, bom estruturamento, uma sequência de células justapostas e organizadas, o que provavelmente dificultaria a entrada de micro-organismos. De um modo geral,

as células da epiderme não apresentam tamanhos uniformes, nem regularidade em posição, variando em localização e em quantidades de camadas, bem como no formato das células, podendo ser alongadas horizontalmente, com apenas uma camada ou arredondadas e com mais de uma camada celular (Figura 2A).

O clone IPA Sertânia apresenta, na epiderme, dupla camada de células de tamanhos uniformes, variando em alguns pontos, nos quais há células maiores. Alguns cortes mostraram a presença de três camadas de células pequenas. Apesar de pequenas, apresentam uniformidade quando justapostas, o que dificulta a entrada de microorganismos. As camadas de células aumentam seu tamanho, quando se aproximam das células do parênquima, ou seja, quanto mais interna for a localização da célula, maior será o tamanho (Figura 2B).

Para o clone Gigante, alguns cortes apresentaram uma ou duas camadas de células da epiderme, com células de tamanhos que variam quanto à posição. Suas células são maiores que as células da epiderme da Orelha de Elefante Mexicana e também diferente da IPA Sertânia, que apresenta células que crescem quando vão se localizando mais internamente (Figura 2C).

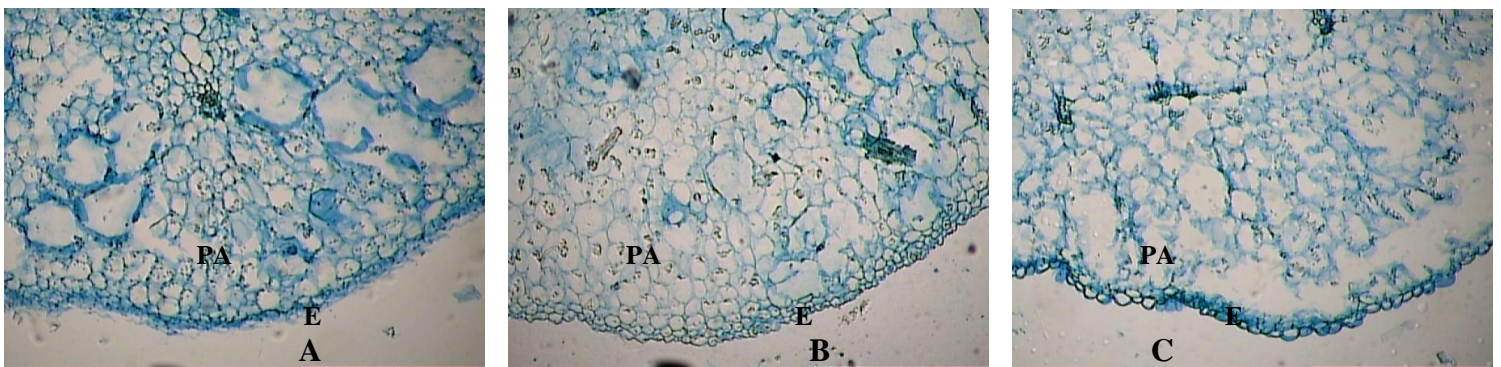


Figura 2 – Estrutura histológica, parênquima (PA) e epiderme (E) dos clones de palma forrageira Orelha de Elefante Mexicana (A), IPA Sertânia (B) e Gigante (C) proveniente do cultivo in vitro.

## CONCLUSÕES

Plantas dos clones de palma forrageira IPA Sertânia e Orelha de Elefante Mexicana, cultivadas in vitro, mesmo recém retiradas dos frascos de cultivo, não têm alterada a resistência à cochonilha do carmim.

A resistência à cochonilha do carmim para os clones IPA Sertânia e Orelha de Elefante Mexicana não está relacionada com a espessura da epiderme.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBADE, L.C.; PAIVA, P.D. de O.; PAIVA, R.; et al. Anatomia foliar de ipê branco (*Tabebuia roseo alba* (Ridl.) Sand.), proveniente do cultivo ex vitro e in vitro. *Acta Scientiarum. Biological Sciences Maringá*, v. 31, n. 3, p. 307-311, 2009.
- ALMEIDA-CORTEZ, J. "Herbivoria e mecanismos de defesa vegetal". In: NOGUEIRA, R.J.M.C; ARAÚJO, E.L.; WILLANDINO, L.G.; et al. (Org.) **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife: MXM Editora p. 389-396, 2005.
- ARAGÃO, C.A.; MALUF, W.R.; DANTAS, B.F.; et al. Tricomas foliares associados à resistência ao ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch.) em linhagens de tomateiro com alto teor de 2-tridecanona nos folíolos. **Ciência Agrotécnica** (edição especial) n.14, p. 81-93, 2000.

- BARBOSA, S.B.S.C; RIBEIRO, D.G.; TEXEIRA, J.B.; et al. Anatomia foliar de plantas micropropagadas de abacaxi - **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.41, n.2, p.185-194, 2006.
- BJORKMAN, O. Responses to different quantum flux densities. In: LANGE, O. L.; NOBEL P. S.; OSMOND C. B.; ZIEGLER, H. (Ed.). **Physiological plant ecology I: responses to physical environment**. Berlin: Springer-Verlag, p. 57-107, 1981.
- BOARDMAN, N. K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review of Plant Physiology** v. 28, p. 355-377, 1977.
- CARVALHO, G.G.P., PIRES, A.J.V. Organização dos tecidos de plantas forrageiras e suas implicações para os ruminantes, Revisão bibliográfica, **Arch. Zootec.** 57, p. 13-28, 2008.
- CASTRO, E. M. Alterações anatômicas, fisiológicas e fitoquímicas em *Mikania glomerata* Sprengel (guaco) sob diferentes fotoperíodos e níveis de sombreamento. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2002, 221p. **Tese** (Doutorado em Fitotecnia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.
- DESCHAMPS, F.C. Implicações do período de crescimento na composição química e digestão dos tecidos de cultivares de capim elefante. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.6, p.1178-1189, 1999.
- FADINI, M.A.M.; LEMOS, W.P.; PALLINI, A.; et al. "Herbivoria de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) induz defesa direta em morangueiro?" **Neotropical Entomology** v. 33, p. 293-297, 2004.
- FIDELIS, I.; CASTRO, E. M. C.; PINTO, J. E. B. P.; GAVILANES, M. L.; SANTIAGO, E. J. A. Características anatômicas de estruturas vegetativas de *Brosimum gaudichaudii* Trec. Desenvolvidas in vitro e ex vitro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 24, n. 2, p. 327-336, 2000.

FLORES-FLORES, V.; TEKELENBURG, A. Produção de corante Dacti (*Dactylopius coccus* Costa). In: BARBERA, G.; INGLESE, P. (Eds.) **Agroecologia, cultivos e usos da palma forrageira**. Paraíba: SEBRAE/PB, p. 169-183, 2001

FLORES-HERNÁNDEZ, A.; AMADOR, B.M.; PUENTE, E.O.R.; et al. Reproducción de cochinilla silvestre *Dactylopius opuntiae* (Homóptera: Dactylopiidae) **Revista Mexicana de Biodiversidad** v.77, p. 97-102, 2006.

JOHANSEN, B. A. **Plant microtechnique**. New York: Mc- Grawn-Hill, 1940, 433 p.

KRAUS, J.E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica, Rio de Janeiro: EDUR, 1997, 198p.

LARA, F. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. 2ª ed. São Paulo: Ícone, 1991.

LOPES, E.B.; BRITO, C.H. de; ALBUQUERQUE, I.C.; et al. Seleção de genótipos de palma forrageira (*Opuntia* spp.) e (*Nopalea* spp.) resistentes à cochonilha do carmim (*Dactylopius opuntiae* Cockerell, 1929) na Paraíba, Brasil - **Engenharia Ambiental**. Espírito Santo do Pinhal, v. 7, n. 1, p. 204-215, 2010.

LUCAS, P.W.; TUNER, I.M.; DOMINY, N.J.; et al. Mechanical defences to herbivory. **Annals of Botany** v. 86, p. 913-920, 2000.

MELO, M.O.; SILVA-FILHO, M.C. "Plant-insect interaction: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms". **Brazilian Journal of Plant Physiology** v.14, p.71-81, 2002.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiology Plant**. v. 15, p. 473-497, 1962.

NOBEL, P. S. Internal leaf área and cellular CO<sub>2</sub> resistance: photosynthetic implication of variations with growth conditions and plant species. **Physiologia Plantarum**, v. 40, n. 2, p. 137-144, 1977.

PASSOS DA SILVA, D.M.; KIDO, L.M.H.; SANTOS, D. C. dos; et al. Resistance of in vitro grown forage cactus clones to *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae). **Acta Horticulturae**, v.811, p. 299-302, 2009.

RANI, V.; RAINA, S.N. Genetic fidelity of organized meristem-derived micropropagated plants: a critical reappraisal. **In vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**, v.36, p.319-330, 2000.

REZENDE, R.K.S.; PAVA, L.V.; PAIVA, R.; et al. Organogênese em capítulos florais e avaliação de características anatômicas da folha de *Gerbera jamesonii* Adlam. **Ciência Agrotécnica**. Lavras, v. 32, n. 3, p. 821-827, 2008.

RIBEIRO, M. [2009] Pesquisa desenvolve tecnologias para o controle da cochonilha-do-carmim em palma. JB ON LINE. Disponível em:

<http://www.campoecriacao.com.br/site/index.php?p=noticia&id=9299>

SANTOS, D. C.; LIRA, M. A.; FARIAS, I; et al. Seleção de clones de palma forrageira resistentes à cochonilha do carmim *Dactylopius sp.*, em condições de campo. In: 43 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, João Pessoa,PB, 2006. **Anais...**João Pessoa: SBZ, 2006. CD Rom v. Único.

SANTOS, D. C.; LIRA, M. A.; FARIAS, I; et al. Selection of forage cactus pear genotypes resistant to the carmine cochineal. In: VI International Congress on Cactus Pear and Cochineal, VI, 2007, João Pessoa-PB **Resumos...**João Pessoa: UFPB/FAO, 2007. CD Rom v. Único.

SILVA, M.G.S.; DUBEUX JR., J.C.B.; ASSIS, L.C. da S.L.C.; et al. Anatomy of different forage cacti with contrasting insect resistance. **Journal of Arid Environments**, v. 74, p. 718-722, 2010.

SILVA, F. de A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. de. A New Version of The Assistat-Statistical Assistance Software. In: World Congress on Computers in Agriculture, 4, Orlando. **Anais...** Orlando: American Society of Agricultural Engineers, p.393-396, 2006.



- SILVA, M. C. **Avaliação de descritores morfológicos e seleção de diferentes tipos de progênies de Pennisetum sp.** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco/Imprensa Universitária, 2006, 78p. Tese (Doutorado em 2006). Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2006.
- SOARES, G. A. **Aspectos do cultivo in vitro do ingazeiro (Inga vera Willd, subsp. affinis (DC.) T. D. Penn.)**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2003. 107f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) Universidade Federal de Lavras, 2003.
- VASCONCELOS, A. G. V. de; LIRA, M. de A.; CAVALCANTI, V.A.L.B.; et al. Micropropagação de palma forrageira cv. Miúda (Nopalea cochenillifera - Salm Dyck). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** v.2, n.1, p.28-31, 2007.
- VASCONCELOS, A. G. V. de; LIRA, M. de A.; CAVALCANTI, V.A.L.B.; et al. Seleção de clones de palma forrageira resistente à cochonilha do carmim (Dactylopius sp.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.5, p.827-831, 2009.
- ZHAO, Y.; ZHOU, Y.; GROUT, B.W.W. Variation in leaf structures of micropropagated rhubarb (Rheum rhaponticum L.) PC49. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.85, p.115-121, 2006.

### **CAPITULO 3**

## **ESTIMATIVA DE PARÂMETROS GENÉTICOS E PREDIÇÃO DE VALORES GENOTÍPICOS UTILIZANDO A METODOLOGIA REML/BLUP PARA SELEÇÃO DE PALMA FORRAGEIRA RESISTENTE À COCHONILHA DO CARMIM**

## RESUMO

A cochonilha do carmim *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera, Dactylopiidae) é uma praga da palma forrageira, responsável pela destruição de palmas em vários Estados do Nordeste do Brasil. Visando selecionar clones de palma forrageira resistentes à cochonilha do carmim, foram testados 20 clones, a partir de infestação artificial com a cochonilha. Foram realizadas observações quanto à fixação de colônias sobre os cladódios, a partir de uma escala de notas variando de zero a cinco, sendo zero a ausência e cinco o maior nível de infestação. Utilizou-se a Metodologia de Modelos Mistos para a obtenção da Melhor Predição Linear não Tendenciosa (BLUP) dos efeitos genotípicos e o processo da Máxima Verossimilhança Restrita (REML) para a estimação dos componentes de variância e dos parâmetros genotípicos. Verificou-se alta variabilidade genética entre os materiais avaliados, conforme depreende-se das estimativas do coeficiente de variação genotípica (26,73%) e da herdabilidade (72%), que indicam condições favoráveis à seleção, que podem conduzir a avanços genéticos consideráveis. Foram selecionados dois clones classificados como resistentes, com valor relativo superior a 95%, sendo eles: Miúda e Orelha de Elefante Africana.

Palavras-chave: *Nopaleas*, ganho de seleção, *Opuntias*, parâmetros genéticos, semiárido

## ABSTRACT

Carminic cochineal *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera, Dactylopiidae) has become a plague in some regions, being responsible for the destruction of prickly-pear plantations in several states of the Brazilian Northeast. The objective of this study is to evaluate the resistance of several Prickly-pear variations to cochineal carmine. The plants were artificially infested. The level of infestation was evaluated by a scale from zero to five, where zero means no infestation and five the highest level of infestation, by selecting the best clones based on Best Linear Unbiased Prediction (BLUP) of the genotypic effects using the Mixed Models Methodology. The variance components and genotypic parameters were obtained by using the Maximum Restricted Likelihood (REML) process. The selection of the best clones by the REML/BLUP methodology resulted to be efficient with high gain selection. High genetic variability was verified among the genetic material evaluated, as shown by the coefficient of genotypic variation (26,73%) and hereditary (72%). These coefficients indicate favorable conditions to clone selection, which may favor considerable genetic advances. Two clones, “Miuda”, and “Orelha de Elefante Africana”, were selected and classified as resistant, with relative value above 95%.

Key Words: *Nopaleas*, gains of selection, *Opuntias*, genetic parameters, semiarid

## INTRODUÇÃO

A palma forrageira é um suprimento de alimento extremamente importante para a pecuária do Semi-Árido, pois ao lado dos atributos de resistência às estiagens prolongadas apresenta alta palatabilidade e digestibilidade e, quando cultivada em condições adequadas, é capaz de alcançar produtividade de 40 toneladas de MS/ha/2 anos (SANTOS et al., 2006).

As pragas e doenças da palma têm aumentado em incidência, sendo esse fato atribuído ao aumento da área cultivada e da intensificação dos sistemas de produção, inclusive com maior adensamento das plantas e conseqüente facilidade de contaminação (SANTOS et al., 2010). Na região Nordeste do Brasil, a cochonilha do carmim tem sido a principal limitação para o cultivo da palma forrageira e provocado grandes prejuízos econômicos, especialmente nos Estados de Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte e Ceará.

A melhor alternativa de cultivo para a palma em regiões onde existe a ocorrência da cochonilha do carmim é o plantio de clones resistentes (Vasconcelos et al. 2009). Dessa forma, a busca por resistência à praga vem sendo um dos principais objetivos do programa de melhoramento para a palma forrageira.

Os genótipos de palma forrageira existentes apresentam distintas capacidades de adaptação às condições locais, influenciando a taxa de sobrevivência e a suscetibilidade às pragas e doenças. Segundo Sales et al. (2009), é necessária a realização de testes de novos genótipos com o objetivo de identificar clones que possam promover o incremento de áreas exploradas com a cultura na região semiárida.

Edvan et al. (2009) estudaram a diversidade genética entre 21 acessos de palma forrageira para as características: altura, número de cladódios por planta, comprimento, largura e espessura de cladódio e concluíram que existe variabilidade genética entre eles. Essa variabilidade permite

a utilização de melhoramento através do método da seleção, mesmo que esse apresente o problema de ser baseado apenas no fenótipo e ser muito influenciado pelo ambiente.

Através de análises estatísticas adequadas, é possível, a partir de observações fenotípicas, prever os valores genotípicos (Resende, 2008). Na estimação ou predição dos valores genotípicos, o mais importante é a escolha do método a ser utilizado. Esse método deve propiciar a inferência mais precisa e realista possível, o que deve ser avaliado segundo parâmetros estatísticos adequados. Dentre os principais procedimentos para a estimação dos parâmetros genéticos, destaca-se a análise de variância (ANOVA) e o procedimento REML/BLUP - máxima verossimilhança restrita/melhor predição linear não tendenciosa (Cruz & Carneiro, 2003). As análises de variância (ANOVA) e de regressão foram, por muito tempo, os principais esteios da análise e modelagem estatística. Entretanto, estas técnicas têm limitação para lidar com dados desbalanceados e com parentesco entre tratamentos (Resende, 2004).

O método REML permite lidar com essa situação oferecendo maior flexibilidade e eficiência na modelagem. Além disso, não se recomenda a utilização da análise de variância para experimentos com mais de oito tratamentos (Resende, 2008). A utilização de modelos mistos para espécies perenes como café, eucalipto e cana de açúcar, visando à obtenção dos preditores (BLUP) dos valores genéticos, tem se destacado principalmente devido à possibilidade de avaliação de experimentos desbalanceados (Farias Neto & Resende, 2001; Garcia & Nogueira, 2005; Pedrozo et al., 2009).

A predição do BLUP presume o conhecimento dos verdadeiros valores dos componentes de variância, entretanto, como isso não é possível, na solução via Equações de Modelos Mistos tem sido utilizadas as estimativas destes componentes. Neste caso, dentre os principais procedimentos

para estimação dos componentes de variância, destaca-se o de Máxima Verossimilhança Restrita (REML), proposto por Patterson & Thompson (1971) e descrito por Lopes et al. (1998).

Apesar dos avanços nos programas de melhoramento da palma forrageira, ainda são incipientes as informações sobre diversos aspectos como, por exemplo, ganho genético e herdabilidade das características desejáveis dos clones. Neste contexto, o presente trabalho objetivou estudar a variabilidade genética para uma população de 20 clones de palma forrageira, através da estimação dos parâmetros genéticos (herdabilidade, variância fenotípica individual, variância genotípica, coeficiente de variação genotípica, coeficiente de variação residual) e ganhos genotípicos para o caráter de resistência à cochonilha do carmim, utilizando a metodologia REML/BLUP.

## MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se a Metodologia de Modelos Mistos para a obtenção da Melhor Predição Linear não Tendenciosa (BLUP) dos efeitos genotípicos e o processo da Máxima Verossimilhança Restrita (REML) para a estimação dos componentes de variância e dos parâmetros genotípicos para seleção de clones de palma forrageira (Resende 2006).

Foram usados como dados básicos os resultados do trabalho de seleção de clones de palma forrageira resistentes à cochonilha-do-carmim (*Dactylopius* sp), obtidos por Vasconcelos et al. (2009). O experimento de seleção dos clones de palma forrageira foi conduzido na sede do Instituto Agronômico de Pernambuco – IPA, em Recife, durante o período de setembro de 2001 a fevereiro de 2002.

O experimento consistiu na utilização de cladódios terciários com aproximadamente dois anos de idade, de 20 clones de palma forrageira, provenientes da Estação Experimental do IPA em Caruaru. Os clones foram cultivados em canteiros num telado, utilizando-se para plantio um cladódio por cova. As características do solo e metodologia de seleção detalhada estão descritas no trabalho de Vasconcelos et al.(2009).

Foram atribuídas notas de zero a cinco, para todos os cladódios de cada planta, no qual o zero foi referente à ausência de infestação e cinco à infestação máxima.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo a unidade experimental uma planta de cada clone. A nota de cada planta foi obtida através das médias das notas de infestação dos cladódios.

Os dados da Tabela 1 correspondem as notas individuais de cada planta aos 47 dias após infestação, submetidos à análise de variância para comprovação de diferenças significativas entre as médias dos clones e foram processados utilizando-se o programa estatístico SWNTIA 4.2.1 (Embrapa, 1996), de modo que as médias foram comparadas pelo teste Duncan a 5% de probabilidade.



Tabela 1 - Incidência de cochonilha do carmim em clones de palma, 47 dias após infestação

Clone	Nota média
Cv. Redonda	4,4700 a
IPA – 90 – 73	4,1567 ab
Clone IPA 20	4,0925 ab
IPA – 90 -92	4,0200 ab
1327 Marmillon fodder	3,9675 ab
IPA – 90 - 111	3,9050 ab
IPA – 90 - 18	3,8925 ab
1317 Chile Fruit	3,7500 ab
IPA – 90 - 75	3,6900 ab
IPA – 90 - 156	3,6650 ab
IPA – 90 -115	3,6525 ab
IPA – 90 -106	3,5975 ab
1278 Mexico Fodder	3,5050 b
1311 Marmillon Fodder	3,4175 b
1258 Additional C.V.	3,3750 b
1294 Mexico Vegetable	3,2500 b
Cv. Gigante	3,2500 b
Algerian	1,6675 c
Orelha de elefante	0,2500 d
Cv. Miúda	0,0000d

CV = 16,1%

Notas seguidas por mesmas letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade

Fonte: Vasconcelos et al. (2009)

As estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos, predição de valores genéticos e cálculos de ganhos genéticos com seleção foram obtidas usando o software genético-estatístico SELEGEN-REML/BLUP (Sistema Estatístico e Seleção Genética Computadorizada via Modelos Lineares Mistos) apresentado por Resende (2006), o qual utiliza técnicas de avaliação genética

envolvendo simultaneamente a predição de valores genéticos e a estimação de componentes de variância. O procedimento utilizado pelo aplicativo para predição de valores genéticos é o BLUP (melhor predição linear não tendenciosa), utilizando-se estimativas dos parâmetros genéticos e componentes de variância obtidos pelo método da máxima verossimilhança restrita (REML). O programa emprega os modelos, estimadores e preditores apresentados por Resende (2002b) e pode ser utilizado para plantas alógamas, autógamias e com sistema reprodutivo misto.

Para processamento dos dados, as notas originais foram acrescidas de uma unidade de forma que o programa utilizado identificasse a nota zero como parcela perdida, ocorrida em dois clones.

O modelo estatístico sugerido por Resende (2006) para avaliação dos dados foi:  $y = Xu + Zg + e$ , em que  $y$  é o vetor de dados,  $u$  é o escalar referente à média geral (efeito fixo),  $g$  é o vetor dos efeitos genotípicos (assumidos como aleatórios) e  $e$  é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios). As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos.

Os valores genotípicos de cada clone foram obtidos somando-se cada efeito genotípico à média geral do experimento. O ganho genético equivale à média dos vetores dos efeitos genéticos preditos para os clones selecionados. A média geral somada ao ganho genético resulta na média da população melhorada. O desempenho relativo de cada clone foi obtido pela relação entre as médias da população melhorada de cada clone e a média do clone de menor valor genético.

A nova média ( $Mm$ ) corresponde à média da população melhorada. A média geral corresponde a média da população original ( $Mo$ ) na qual foi realizada a seleção e o ganho corresponde ao ganho de seleção. O ganho de seleção é obtido em função do diferencial de seleção ( $ds$ ) e a herdabilidade no sentido restrito ( $hr$ ), determinado através da fórmula:  $g = ds * hr$ . O diferencial de seleção ( $ds$ ) corresponde a diferença entre a média da melhor população

selecionada em relação à média da população original, onde foi realizado o processo de seleção  $ds = Ms - Mo$ .

Segundo Resende & Duarte (2007), uma das formas de se determinar acurácia seletiva é através da associação entre o coeficiente de variação relativa ( $CVr = CVg / CVe$ ), em conjunto com o número de repetições, através da entrada dos dados em uma tabela pré-definida. Para se atingir uma meta de acurácia de 90%, os valores de  $CVr$  devem ser entre 0,70 (com dez repetições) e 1,50 (com duas repetições). Para determinar a acurácia do experimento foi utilizada a tabela de valores de acurácia seletiva para diversos coeficientes de variação relativa ( $CVr$ ), sob diferentes números de repetições, proposta por Resende & Duarte (2007).

A comprovação de diferença significativa entre os genótipos foi realizada por meio da análise dos intervalos de confiança dos valores genotípicos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes às estimativas dos parâmetros genéticos para seleção dos clones quanto à resistência à cochonilha do carmim estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Estimativa de parâmetros genéticos para o caráter de resistência à cochonilha do carmim em clones de palma forrageira avaliados sobre condições controladas, Recife-PE.

Variância Genotípica ( $Vg$ )	1,28
Variância residual ( $Vê$ )	0,50
Variância fenotípica individual ( $Vf$ )	1,78
Herdabilidade no sentido amplo ( $h^2$ )	$0.72 \pm 0.27$
Coeficiente de variação genotípica ( $CVgi\%$ )	26,73
Coeficiente de variação residual ( $Cve\%$ )	16,79
Coeficiente de variação relativa ( $CVr\%$ )	1,59
Acurácia	0,95

O coeficiente de variação genotípica é uma estatística expressa em relação à média das populações e dos caracteres e permite inferir sobre a magnitude da variabilidade presente nas populações e em diferentes caracteres. O valor de 26,73%, encontrado neste trabalho, comprova a situação propícia para a seleção de clones para resistência à cochonilha do carmim, bem como o valor de 1,59 para o coeficiente de variação relativa ( $CV_r = CV_{gp}(\%) / CV_e(\%)$ ) também indica situação favorável à seleção entre os clones, já que a herdabilidade equivale a 0,72, fato que conduziu a uma acurácia seletiva de 0,95 (95%), a qual pode ser considerada como muito alta.

As estimativas do coeficiente de herdabilidade ( $h^2 = 0,72$ ) evidenciam alto controle genético na expressão do caractere de resistência à cochonilha do carmim em clones de palma e mostra grande potencial para seleção dentre os clones avaliados, com boas perspectivas de avanço genético. Esse valor é referente à herdabilidade no sentido amplo. Saide et al. (2010) encontraram o valor de 0,09 a 0,20 de herdabilidade para número de cladódios novos formados por planta num experimento com 30 clones de palma forrageira, realizado em Marrocos. Os maiores índices de herdabilidade foram para as características de peso das sementes por fruto e o número de sementes por fruto, sendo de 0,56 e 0,46, respectivamente.

O coeficiente de herdabilidade é um parâmetro muito utilizado no melhoramento de plantas, pois expressa a confiabilidade do valor fenotípico como indicador do valor genético (Ferreira, 2006). A herdabilidade é a proporção de variância genética sobre a variância fenotípica total, ou seja, a proporção herdável da variabilidade total. Essa proporção herdável é alterada pelo efeito do ambiente. Os valores do coeficiente de herdabilidade variam de 0 a 1, e serão menores quanto maior for a influência do ambiente na variação total (Ferreira, 2006).

A qualidade da avaliação genotípica deve ser inferida preferencialmente com base na acurácia, para o processo de seleção em programas de melhoramento, deve-se buscar valores de acurácia acima de 70% (Resende, 2008).

Neder et al. (2009), num trabalho de predição de valores genéticos da produção de biomassa de palma forrageira utilizando a metodologia REML/BLUPT, também observaram valores elevados para os parâmetros estimados: variância genética, herdabilidade (entre 0,40 e 0,65) e acurácia (0,79 e 0,90), indicando a existência de elevada variabilidade dos clones de palmas avaliados, alta precisão dos valores genotípicos preditos e viabilidade de aplicação de uma alta pressão de seleção, em um universo de 21 clones de palma.

A acurácia evidencia alta precisão das inferências das médias genotípicas, porque de acordo com Resende (2002a), essa tem a propriedade de informar sobre o correto ordenamento das cultivares para fins de seleção e também sobre a eficácia da inferência acerca do valor genotípico da cultivar (ou genótipo), sendo uma correlação entre os valores genotípicos preditos e os verdadeiros. Pelo resultado obtido no presente trabalho verifica-se uma acurácia muito alta (95%) para a característica de resistência à cochonilha do carmim.

Conforme Resende (2004), um parâmetro adequado para avaliar a qualidade dos experimentos de avaliação de cultivares pode ser sumarizado em termos de uma única estatística, a qual contempla, simultaneamente, o coeficiente de variação experimental, o número de repetições e o coeficiente de variação genotípica. A expressão a seguir mostra como o valor  $F$  (de Snedecor) contempla os três parâmetros mencionados:  $F = 1 + bCVg^2/CVe^2$ . Como resultado de  $F$  para a análise dos resultados desse trabalho temos  $F = 11,1381$ .

De acordo com os valores adequados do teste  $F$  (de Snedecor) para os efeitos de tratamentos (cultivares) na análise de variância, visando-se atingir determinada acurácia seletiva e as categorias de precisão requeridas na avaliação genotípica proposta por Resende & Duarte (2007), observa-se que, para se atingir uma acurácia seletiva ideal (90% ou mais), para uma inferência estatística segura, os valores de  $F$  para cultivares devem ser iguais ou superiores a 5,26. Por conseguinte, este pode ser um valor de referência para os experimentos de avaliação de

valor de cultivo e uso (VCU). Tal valor independe da espécie cultivada e do caráter sob avaliação, podendo servir como padrão para avaliar experimentos dessa natureza. Assim, pode-se dizer que o experimento realizado permitiu atingir um nível muito elevado de acurácia, podendo os resultados serem utilizados para determinação de valor de cultivo e uso.

O número de repetições utilizado neste trabalho (quatro) possibilitou níveis ideais de acurácia seletiva superiores a 90%, em função do elevado valor da herdabilidade (72%), pois segundo Resende & Duarte (2007), para caracteres que apresentam valor de determinação genética inferior a 40%, como para caracteres de produção, são necessárias, pelo menos, seis repetições para obtenção de acurácia seletiva acima de 90%.

Os resultados referentes aos efeitos genotípicos preditos, valores genotípicos, ganhos genéticos e nova média para o caráter de resistência à cochonilha do carmim em palma forrageira (Tabela 3) confirmaram a variação entre os clones, variação essa também observada por Vasconcelos et al. (2009).

Tabela 3 - Resultados apresentados pelo programa SELEGEN para os clones de palma forrageira, 47 dias após infestação

Clone	Efeito	Ganho	Ganho	Nova média	Valor	Valor
	Genotípico	Genotípico			fenotípico	relativo
Cv. Miúda	-2,86	1,38	0,00	4,23	0,75	100,00%
Orelha de Elef.	-2,71	1,52	0,15	4,38	1,25	96,57%
Algerian	-1,42	2,81	0,31	4,54	2,67	93,19%
IPA – 90 – 73	-0,1	4,13	0,41	4,64	4,12	91,14%
México Veget.	0,02	4,25	0,44	4,67	4,25	90,51%
Cv. Gigante	0,02	4,25	0,47	4,70	4,25	89,97%
Additional C.V.	0,13	4,36	0,50	4,74	4,38	89,35%
1311 – Mar. Fod	0,17	4,4	0,53	4,76	4,42	88,81%
México Fodder	0,25	4,48	0,56	4,79	4,51	88,25%
IPA – 90 -106	0,33	4,56	0,59	4,82	4,60	87,73%
IPA – 90 -115	0,38	4,61	0,62	4,85	4,65	87,27%
IPA – 90 - 156	0,4	4,63	0,64	4,87	4,67	86,80%
IPA – 90 - 75	0,41	4,64	0,67	4,91	3,52	86,25%
Chile Fruit	0,47	4,7	0,71	4,94	4,75	85,58%
IPA – 90 - 18	0,6	4,83	0,75	4,98	4,89	84,89%
IPA – 90 - 111	0,61	4,84	0,78	5,01	4,91	84,38%
1327 – Mar. Fod	0,67	4,9	0,83	5,06	4,97	83,68%
IPA – 90 -92	0,72	4,95	0,88	5,11	5,02	82,83%
Clone IPA 20	0,78	5,02	0,96	5,19	5,09	81,57%
Cv. Redonda	1,13	5,36	1,13	5,36	5,47	78,95%

Uma grande contribuição da genética quantitativa é a possibilidade de se estimar o ganho obtido com uma estratégia de seleção adotada pelo programa de melhoramento genético. Numa população em que haja variabilidade para realizar a seleção, determina-se a média da população a

ser melhorada e o progresso genético pode ser estimado através do somatório da média da população calculada (4,23) com o ganho genético calculado, que determina a chamada média melhorada ou nova média.

Os valores negativos observados para o efeito genotípico dos clones Miúda, Orelha de Elefante Africana, Algerian e IPA - 90-73 indicam que eles são melhores do que a média. O ganho genotípico representa o ganho esperado com a seleção. A nova média é formada pelo ganho acrescido à média geral.

Ao contrário de trabalhos de seleção para caráter produtivo, nos quais se espera aumento dos valores no ganho genético através da seleção, a redução das médias para a resistência é o objetivo esperado por se tratar de notas de infestação de praga. A identificação dos clones de palma mais promissores quanto à resistência à cochonilha do carmim foi realizada com base nos valores de desempenho relativo, sendo o clone com valor 100% considerado resistente.

A variação encontrada em uma determinada espécie (variação fenotípica) pode ser de duas origens: uma devido ao efeito do ambiente e a outra devido à variabilidade genética, a qual se origina da segregação e recombinação dos genes (Ferreira, 2006). A variância fenotípica de uma população segregante pode ser desdobrada para se estimar a proporção da variação que corresponde aos fatores genéticos da população selecionada e a proporção da variação devido aos fatores ambientais.

A existência de variação genética é um pré-requisito para o melhoramento de plantas. Portanto, torna-se importante quantificar a proporção da variação fenotípica que corresponde ao ambiente e a variação correspondente ao genótipo, para poder estimar com melhor precisão experimental a resposta dos genótipos nos ambientes testados.

Através da sobreposição de intervalos de confiança sobre comparações múltiplas entre genótipos, baseando-se em seus valores genotípicos preditos, pode-se inferir se esses diferem ou



não significativamente entre si, para um nível determinado de probabilidade. Esses resultados são apresentados na Tabela 4, em que LIIC e LSIC referem-se aos limites inferior e superior do intervalo de confiança, respectivamente.

Tabela 4 – Limite inferior (LIIC) e superior (LSIC) do intervalo de confiança para os clones de palma forrageira analisados quanto à resistência à cochonilha do carmim

Genótipo	Ganho Genotípico	LIIC	LSIC
Cv. Miúda	1,38a	0,20	2,55
Orelha de elefante	1,52a	0,34	2,70
Algerian	2,81b	1,63	3,99
IPA – 90 – 73	4,13c	2,95	5,31
Mexico Vegetable	4,25cd	3,07	5,43
Cv. Gigante	4,25cd	3,07	5,43
Additional C.V.	4,36cd	3,18	5,54
1311 - Mar. Fod.	4,40cd	3,22	5,58
Mexico Fodder	4,48cd	3,30	5,66
IPA – 90 -106	4,56cd	3,39	5,74
IPA – 90 -115	4,61cd	3,44	5,79
IPA – 90 - 156	4,63cd	3,45	5,81
IPA – 90 - 75	4,64cd	3,46	5,82
Chile Fruit	4,70cd	3,52	5,88
IPA – 90 - 18	4,83cd	3,65	6,01
IPA – 90 - 111	4,84cd	3,67	6,02
1327 Mar. Fod.	4,90cd	3,72	6,08
IPA – 90 -92	4,95cd	3,77	6,13
Clone IPA 20	5,02cd	3,84	6,19
Cv. Redonda	5,36d	4,18	6,54

Com respeito à comparação múltipla é importante relatar que os testes estatísticos provam apenas diferenças, ou seja, não provam igualdades. Pode-se provar estatisticamente que determinados efeitos genotípicos não são iguais. Diz-se que não se conseguiu provar diferenças entre eles. Assim, genótipos com mesma letra em um teste de comparação múltipla não podem ser tomados como iguais, mas apenas que suas diferenças não puderam ser provadas estatisticamente, dada a experimentação empregada (Resende, 2008).

Pelos valores acima, podemos provar a diferença de todos os clones em relação aos clones Miúda e Orelha de Elefante Africana. O clone Algerian também mostrou diferenças entre os demais. Foi comprovada diferença ainda entre os clones IPA - 90 – 73 e o clone redonda. Não se conseguiu provar diferenças entre os demais clones.

Embora neste estudo não tenha havido mudança no ordenamento dos clones em relação ao trabalho de Vasconcelos et al. (2009), segundo os resultados dos estimadores empregados, as diferenças nas estimativas/predições e nas respectivas precisões demonstram que tais estimadores produzem inferências mais realistas e confiáveis acerca da avaliação genotípica.

Embora não seja necessário o conhecimento dos mecanismos de resistência à seleção de cultivares resistentes, os programas de melhoramento genético podem ser acelerados se pesquisas visando o esclarecimento das causas da resistência forem desenvolvidas.

## **CONCLUSÕES**

As estimativas do coeficiente de variação genotípica e da herdabilidade indicam condições favoráveis ao melhoramento através da seleção para palma forrageira quanto ao carácter de resistência à cochonilha do carmim, bem como que podem conduzir a avanços genéticos consideráveis.

O procedimento REML/BLUP apresentou-se eficiente na classificação e no ordenamento dos genótipos, especialmente pelo desbalanceamento.

Pela metodologia REML/BLUP, os clones Miúda e Orelha de Elefante Africana apresentam resistência à cochonilha do carmim, enquanto a palma forrageira cv. Redonda apresentou alta susceptibilidade.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), as bolsas concedidas aos pesquisadores Mário de Andrade Lira, Mércia Virginia Ferreira dos Santos. Aos colegas do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA): Djalma Cordeiro dos Santos e Iderval Farias, membros do programa de melhoramento genético e manejo de palma forrageira, do qual foram obtidos os clones utilizados no experimento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. v. 2. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003.

EDVAN, R.L; COSTA, F.R da; NEDER, D.G. et al. Diversidade genética entre acessos de palma forrageira com base em caracteres de produção. In: **Congresso Brasileiro de Palma e Outras Cactáceas**. Campina Grande, PB. 26 a 29 de Outubro de 2009. CR-Room.

EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa Tecnológica em Informática para Agricultura, **SWNTIA**, Versão 4.2.1, 3v Disquetes, Campinas, SP, 1996.

FARIAS NETO, J.T. de; RESENDE, M.D.V.de. Aplicação da metodologia de modelos mistos (REML/BLUP) na estimação de componentes de variância e predição de valores genéticos em pupunheira (*Bactris gasipaes*). **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, Aug. 2001.

GARCIA, H.C.; NOGUEIRA, M. C. S. Utilização de metodologia REML/BLUP na seleção de clones de eucalipto. **Revista Scientia Forestalis** n. 68, p.107-112, 2005.

LOPES, P.S.; MARTINS, E.N.; SILVA, M.A. et al. Estimação de componentes de variância. In: **Cadernos Didáticos**, Viçosa, MG, n.39, 1998.

NEDER, D.G; EDVAN, R.L.; COSTA, F. R da et al. Predição de valores genéticos da produção de biomassa de palma forrageira via metodologia dos modelos mistos (REML/BLUPT). In: **Congresso Brasileiro de Palma e Outras Cactáceas**. Campina Grande, PB. 26 a 29 de Outubro de 2009. CR-Room.

PEDROZO, C.A; BENITES, F.R.G.; BARBOSA, M.H.P; RESENDE, M.D.V; SILVA, F.L da; Eficiência de índices de seleção utilizando a metodologia REML/BLUP no melhoramento de cana de açúcar. **Scientia agraria**, ISSN 1983-2443, Vol. 10, Nº. 1, 2009 , págs. 31-36

RESENDE, M.D.V. de. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002a, 975 p.

RESENDE, M. D. V. de. **O Software Selegen-Reml/Blup**. Campo Grande: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2006.

RESENDE, M.D.V.; DUARTE, J.B. Precisão e controle de qualidade em experimentos e avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical** 37(3), p182-194, 2007.

RESENDE, M.D.V. Experimentos e análises estatísticas no melhoramento de forrageiras. In: Resende, R.M.S; Valle, C. B. do; Jank, L. **Melhoramento de Forrageiras Tropicais** Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2008, 293p.

SALES, A.T.; ANDRADE, A.P. de; SILVA, D.S. da et al. Adaption Potential of Cactus Pear to Soil and Climatic Conditions of the Semi-Arid in the Paraíba State, Brazil. **Acta Horticulture**, Number 811, p395-399, 2009.

SANTOS, D. C. dos; FARIAS, I; LIRA, M. de A et al. **Manejo e utilização da palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*) em Pernambuco**. Recife, IPA, (IPA- Documento 30), 2006, 48p.

SAIDE, EL M.; ABDESSAMAD, EL B.; OMAR, B. E. et al. Analysis of phenotypic and genotypic variability of 30 Moroccan genotypes of cactus pear. In: The VII Internacional Congress on cactus pear & Cochineal. Anais...Agadir, Marocco, 17 a 22 de Outubro de 2010 p. 6.

VASCONCELOS, A. G. V. de; LIRA, M. de A.; CAVALCANTI, V.A.L.B. et al. Seleção de clones de palma forrageira resistente à cochonilha do carmim (*Dactylopius* sp.). **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.38, n.5, p.827-831, 2009.