



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE
SANTANA**
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS
GENÉTICOS VEGETAIS**



ÍTALA LAYANNE DE SOUZA ALVES

**AVALIAÇÃO E ESTIMATIVAS DE POLINIZAÇÃO CRUZADA,
HETEROZIGOSIDADE E HETEROSE EM VARIEDADES
SINTÉTICAS DE CEBOLA (*Allium cepa* L.)**

Feira de Santana - BA

2019

ÍTALA LAYANNE DE SOUZA ALVES

**AVALIAÇÃO E ESTIMATIVAS DE POLINIZAÇÃO CRUZADA,
HETEROZIGOSIDADE E HETEROSE EM VARIEDADES
SINTÉTICAS DE CEBOLA (*Allium cepa* L.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, da Universidade Estadual de Feira de Santana como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador: Prof. PhD. Carlos Antônio Fernandes Santos

Feira de Santana - BA

2019

Ficha Catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteado - UEFS

A479

Alves, Ítala Layanne de Souza

Avaliação e estimativas de polinização cruzada, heterozigosidade e heterose em variedades sintéticas de cebola (*Allium cepa* L.) / Ítala Layanne de Souza Alves. – 2019.

86 f.

Orientador: Carlos Antônio Fernandes Santos.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Feira de Santana, 2019.

1. Cebolas – variedades sintéticas. 2. *Allium cepa* L. 3. Polinização cruzada. 4. Populações. 5. Heterose. 6. Marcador morfológico. I. Título. II. Santos, Carlos Antônio Fernandes. III. Universidade Estadual de Feira de Santana.

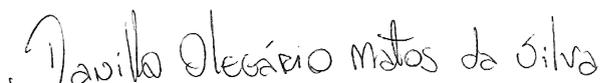
CDU: 582.572.225:631.52

Luis Ricardo Andrade da Silva - Bibliotecário - CRB-5/1790

BANCA EXAMINADORA



**Prof. Dr. Luiz Cláudio Costa Silva
(UEFS)**



**Prof. Dr. Danilo Olegário Matos da Silva
(UNINASSAU)**



**Prof. Dr. Carlos Antonio Fernandes Santos
(Embrapa)
Orientador e Presidente da Banca**

Dedico aos meus pais Denivaldo e Juciana, e aos meus avós Benedito e M^a Dolores
(*In memoriam*), por ter me concedido a base necessária para chegar até aqui!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Jeová Deus por ter me presenteado com o dom da vida, e ter me concedido sabedoria e coragem para correr atrás dos meus objetivos, sem permitir que as dificuldades me fizessem desistir.

Aos meus pais Denivaldo e Juciana que sempre estiveram ao meu lado, me apoiando e me incentivando a buscar meu crescimento profissional, e que tudo fizeram para que eu alcançasse.

A minha avó M^a Dolores (*In memoriam*) por todo carinho, dedicação e ensinamentos durante sua vida.

Ao meu avô Benedito por todo amor e carinho, e por entender a minha ausência.

Ao meu irmão Denis Vinícius pelo carinho e companheirismo.

A minha avó Juliêta por todo amor.

A minha família, que torce e se alegra com as minhas conquistas.

Ao meu grande amigo João Aguiar pelo companheirismo e amor demonstrado, pela paciência durante os momentos difíceis enfrentados ao longo desse trabalho, e por toda atenção e apoio demonstrado.

Aos meus amigos Diogo Ronielson, Bruno Djvan, Rodrigo Moura e José Henrique, obrigada por estarem sempre presentes.

Às minhas amigas Emille Mayara, Palloma Cavalcante, Jéssica Lima, Carliana Araújo, Helanne Barden, Jéssica Albuquerque, Indiara Anne, Bárbara Ramos, Táris Maria, Sarah Taíla, Aline Magalhães e Larisse Laranjeira muito obrigada por todo apoio, amizade e por se fazerem presentes e entenderem minha ausência.

Ao meu Orientador, Prof^o Dr. Carlos Antonio Fernandes Santos, pela orientação e ajuda no desenvolvimento e finalização desse trabalho.

À Universidade Estadual de Feira de Santana por disponibilizar o curso, e aos professores do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais.

À Embrapa Semiárido, por conceder o local e apoio às atividades de pesquisa para realização deste trabalho.

Aos trabalhadores do Campo Experimental de Bebedouro da Embrapa Semiárido, Sr. Hélio, Sr. Assis e Sr. Justino pelo apoio indispensável na condução dos experimentos de campo.

Aos meus amigos e colegas do Laboratório de Genética: Andressa, Kamila,

Silvia, Deisy (por todo ensinamento de molecular), Viviane, Williano, e em especial a Danillo, Roberta, Sirando e Antônio por terem me ajudado na fase da escrita. A todos meu obrigada por terem me ajudado no desenvolvimento e conclusão do meu projeto, e pelos dias leves e divertidos.

À Carlos Silva e Herbert Mouse muito obrigada pela amizade, por terem sido meu socorro por diversas vezes, pela paciência e por terem sido para mim os melhores técnicos.

Às minhas meninas perfeitas: Andressa, Kamila, Jamille, Alícia e Laíla pela companhia e amizade ao longo desses dois anos.

À Fabrício, Marcelo e Melquisedec muito obrigada pela ajuda fornecida quando precisei.

A todos que direta ou indiretamente ajudaram na realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Meus sinceros agradecimentos!

**Não lhe ordenei que seja corajoso e forte?
Não fique apavorado nem tenha medo, pois, seu Deus,
estará com você aonde quer que você for.**

Josué 1:9

ALVES, Í. L. S. **Avaliação e estimativas de polinização cruzada, heterozigosidade e heterose em variedades sintéticas de cebola (*Allium cepa* L.)**. UEFS – Universidade Estadual de Feira de Santana. Dissertação. p. 84, 2019.

Orientador: Dr. Carlos Antônio Fernandes Santos

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivos desenvolver e avaliar Variedades Sintéticas (VS) Syn 0 de cebola, como alternativa ao desenvolvimento de híbridos para o nordeste brasileiro, bem como estimar taxa de polinização cruzada e heterozigosidade em populações de cebola. Foram utilizadas oito populações de polinização aberta (OP) para obtenção de seis variedades sintéticas. Populações de bulbo amarelo, foram plantadas em linhas alternadas com populações de bulbo de cor vermelha, característica dominante. Quatro loci microssatélites, AMS 03, ACM 004, ACM091 e ACM124, foram utilizados adicionalmente nas estimativas da taxa de polinização cruzada, em quatro cruzamentos. A heterozigosidade foi estimada com suporte do software PowerMarker V3.25. Foram avaliados a produção total (PTB) e comercial de bulbos (PBC) e o ciclo de maturação. Heterose média, heterobeltiose e heterose padrão foram estimadas para a produção de bulbos. Seis VS, oito populações de polinização aberta e um híbrido comercial foram avaliados em delineamento experimental de blocos casualizados, com três repetições, em duas diferentes épocas. As taxas de cruzamentos estimadas com marcador morfológico variaram de 15% a 39%, com média de 28,2%, e com loci microssatélites variaram de 33% a 71%, com média de 42,7%. Os valores médios de heterozigosidade em oito populações, variaram de 0,82 a 1,0. A heterose média para produção de bulbo comercial das VS foi negativa no primeiro semestre, e positiva em quatro VS no segundo. O valor da heterobeltiose para PBC das VS foi negativa no primeiro semestre, e positiva em três VS, no segundo semestre. As VS não apresentaram heterose superior em relação a cultivar comercial padrão, BRS Alfa São Francisco, exceto a VS Alfa RT x BRS Alfa São Francisco, no primeiro semestre. Foram observados efeitos significativos para cultivares e interação cultivares*semestre para as três variáveis. O híbrido comercial e Alfa RT apresentaram as maiores médias combinadas para PTB, 72,8 e 73,9 t/ha⁻¹, respectivamente, enquanto a VS Cascuda T6 x Botucatu e a cultivar Cascuda T6 apresentaram as menores produtividades. Para maturação, as cultivares de maior precocidade foram a Alfa RT, no primeiro semestre e Vale Ouro IPA11 no segundo. As variedades sintéticas Syn-0 BRS Alfa SF x Vale Ouro IPA11, Alfa RT x BRS Alfa SF, BRS Rio Vale x BRS Carrancas e Botucatu x BRS Carrancas apresentaram média de PBC estatisticamente semelhante a quatro cultivares. No geral, as VS apresentaram baixos valores de heterose e baixo potencial produtivo para substituir populações OP e híbridos comerciais.

Palavras-chave: Populações. Morfológico. Molecular. Marcadores. Heterose.

ALVES, Í. L. S. **Evaluate and estimates of crossed polynization, heterozygosity and heterosis in synthetic varieties of onion (*Allium cepa* L.).** UEFS – Universidade Estadual de Feira de Santana. Dissertação. p. 84, 2019.

Orientador: Dr. Carlos Antônio Fernandes Santos

ABSTRACT

The present study aimed to the develop and evaluate of Synthetic Varieties (VS) Syn 0 of onion, as an alternative to the development of hybrids for Brazilian northeast, as well to estimate of cross pollination and heterozygosity rates in onion populations. Eight Open Pollinated (OP) populations were used to obtain six VS. Populations of yellow bulb were planted in alternating rows with populations of red colour bulb, dominant trait. Four microsatellite loci, AMS 03, ACM 004, ACM091 and ACM124, were additionally used in the cross-pollination rate estimates for four crosses. Heterozygosity was estimated with PowerMarker V3.25 software support. Cycle were evaluated the total (PTB) and commercial bulb yields (PBC) and the maturation cycle. Mean heterosis, heterobeltiosis and standard heterosis were estimated for the yield of bulbs. Six VS, eight open pollinated populations and one commercial hybrid were evaluated in a randomized complete block design with three replicates in two different times. Crossing rates estimated with morphological marker ranged from 15% to 39%, with a mean of 28.2%, and with microsatellite loci ranged from 33% to 71%, with an average of 42.7%. The mean values of heterozygosity in eight populations ranged from 0.82 to 1.0. The mean heterosis for VS commercial bulb yield was negative in the first semester and positive in four VS in the second semester. The value of heterobeltiosis for PBC was negative in the first semester and positive in three VS in the second semester. The VS did not present superior heterosis in relation to the standard commercial cultivar, BRS Alfa São Francisco, except to VS Alfa RT x BRS Alfa São Francisco in the first semester. Significant effects were observed for cultivars and cultivars*semester interaction for the three variables. The commercial hybrid and Alfa RT presented the highest pooled averages for PTB, 72.8 and 73.9 t / ha⁻¹, respectively, while VS Cascuda T6 x Botucatu and Cascuda T6 showed the lowest yields. For maturation, the highest precocity cultivars were Alfa RT, in the first semester and Vale Ouro IPA11 in the second semester. The synthetic varieties Syn-0 BRS Alfa SF x Valley Ouro IPA11, Alfa RT x BRS Alfa SF, BRS Rio Vale x BRS Carrancas and Botucatu x BRS Carrancas presented a statistically similar PBC average to four cultivars. In general, VS presented low values of heterosis and low yield potential to replace commercial OP and hybrid populations.

Keywords: Populations. Morphological. Molecular. Markers. Heterosis.

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL - AVALIAÇÃO E ESTIMATIVAS DE POLINIZAÇÃO CRUZADA, HETEROZIGOSIDADE E HETEROSE EM VARIEDADES SINTÉTICAS DE CEBOLA (*Allium cepa* L.).

Figura 1. Umbela de cebola. A- Abertura das flores, B- Fechamento das flores (Produção de sementes).

CAPÍTULO I - TAXA DE POLINIZAÇÃO CRUZADA E HETEROZIGOSIDADE EM POPULAÇÕES DE CEBOLA TROPICAL.

Figura 2. Identificação de planta híbrida pela presença do alelo para bulbo vermelho em progênie de BRS Rio Vale x BRS Carrancas.

Figura 3. O padrão alélico dos loci AMS 03, ACM 004 e ACM 006 na BRS Rio Vale, Botucatu e 55 progênies BRS Rio Vale (P1) x Botucatu (P2). H=planta híbrida, P1= progenitor feminino, P2= progenitor masculino. O branco foi utilizado como teste de pureza.

Figura 4. O padrão alélico dos loci ACM 004, ACM 006 e ACM 091 na BRS Alfa São Francisco (P1) x Vale Ouro IPA 11 (P2), Cascuda T6 (P1) x Botucatu (P2) e Alfa RT (P1) x BRS Alfa São Francisco (P2) e 54, 53 e 55 progênies F1, respectivamente. Sendo, P1= progenitor feminino, P2= progenitor masculino e H= planta híbrida.

CAPÍTULO II - AVALIAÇÃO DE VARIEDADES SINTÉTICAS SYN-0 DE CEBOLA TROPICAL

Figura 5- Plantio de bulbos para produção de sementes de variedades sintéticas de cebola

LISTA DE TABELAS

INTRODUÇÃO GERAL- AVALIAÇÃO E ESTIMATIVA DE POLINIZAÇÃO CRUZADA E HETEROZIGOSIDADE EM VARIEDADES SINTÉTICAS DE CEBOLA (*Allium cepa* L.).

Tabela 1. Variações do fotoperíodo em Estados produtores de cebola em função da latitude e da época do ano.

Tabela 2. Comparação entre variedade sintética e variedade composta.

CAPÍTULO I - TAXA DE POLINIZAÇÃO CRUZADA E HETEROZIGOSIDADE EM POPULAÇÕES DE CEBOLA TROPICAL.

Tabela 3. Identificação (Id) e cor dos bulbos dos genótipos usados para formação de populações de cebola.

Tabela 4. Loci SSRs selecionados para avaliação de hibridismo em quatro populações de cebola.

Tabela 5. Estimativa de taxa de polinização cruzada em populações de cebola com base em locus SSR e cor do bulbo.

Tabela 6. Padrão alélico e heterozigosidade em loci (HL) e populações (HP) de cebola tropical, tendo como referência 28 marcadores SSR.

Tabela 7. Heterozigosidade (H) em quatro populações de cebola com base em loci SSRs

CAPÍTULO II - AVALIAÇÃO DE VARIEDADES SINTÉTICAS SYN-0 DE CEBOLA TROPICAL.

Tabela 8. Acessos utilizados nos cruzamentos para a formação de variedades sintéticas em Petrolina-PE.

Tabela 9. Análises de variância individual e conjunta para produção total de bulbos (PTB), bulbo comercial (PBC) e maturação de bulbos, estimadas em seis populações sintéticas Syn 0, oito cultivares e um híbrido de cebola. Petrolina- PE.

Tabela 10. Heterose em relação à média dos parentais (H_m), Heterobeltiose em relação à média do pai superior (H_{ps}) e heterose em relação à média da variedade comercial padrão (H_p), em variedades sintéticas (VS) de cebola, para Produção Total de Bulbos (PTB) e Produção de Bulbo Comercial (PBC).

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	Porcentagem
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
t	Tonelada
ha	Hectare
t ha⁻¹	Tonelada por hectare
kg ha⁻¹	Kilograma por hectare
cm	Centímetro
°C	Graus celsius
min	Minutos
BAG	Banco Ativo de Germoplasma
BRS	Brasil
PE	Pernambuco
IPA	Instituto Agronômico de Pernambuco
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
RNC	Registro Nacional de Cultivares
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
SSR	Simple Sequence Repeat
OP	Polinização aberta
m	Metro
g	Gramma
nm	Nanômetro
µL	Microlitros
ng	Nanograma
µM	Micromolar
mm	Milímetro
VS	Variedade Sintética
SNK	Student-Newman-Keuls
ANOVA	Análise de Variância
CV	Coeficiente de Variação
FAO	Food and Agriculture Organization
C x S	Interação Cultivar x Semestre (época)
GL	Graus de Liberdade
M	Média
PTB	Produção Total de Bulbos
PBC	Produção Comercial de Bulbos
MAT	Maturação
Hm	Heterose média
Hps	Heterose de pai superior (Heterobelitose)
Hp	Heterose padrão

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	15
A cultura da cebola e sua importância socioeconômica	15
Características botânicas	16
Melhoramento da cebola para o Semiárido brasileiro	18
Sistema reprodutivo em cebola	21
Estimativa da taxa de polinização.....	22
Microsatélites.....	24
Desenvolvimento de híbridos e heterose em cebola.....	25
Variedades sintéticas.....	27
REFERÊNCIAS	30
CAPÍTULO I.....	39
TAXA DE POLINIZAÇÃO CRUZADA E HETEROZIGOSIDADE EM POPULAÇÕES DE CEBOLA TROPICAL	39
INTRODUÇÃO	42
MATERIAL E MÉTODOS.....	44
RESULTADOS.....	47
DISCUSSÃO	51
CONCLUSÕES	53
REFERÊNCIAS.....	54
CAPÍTULO II.....	58
AVALIAÇÃO DE VARIEDADES SINTÉTICAS SYN-0 E DE POPULAÇÕES DE CEBOLA TROPICAL	58
INTRODUÇÃO	61
MATERIAL E MÉTODOS.....	62
RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
CONCLUSÕES	70
REFERÊNCIAS.....	71
CONSIDERAÇÕES FINAIS	76
ANEXOS.....	79
ANEXO A- Lista, tamanho esperado e sequencia dos loci SSRs desenvolvidos por Jackse et al, (2005)	80

ANEXO B-Lista, tamanho esperado e sequencia dos loci SSRs desenvolvidos Fischer e Bachmann et al (2000).....	82
---	----

INTRODUÇÃO GERAL

A cultura da cebola e sua importância socioeconômica

A cebola (*Allium cepa* L.), pertencente à família Aliáceas, é uma espécie diploide ($2n=2x=16$) (WHEELER et al, 2013), com genoma 36 vezes maior que o de arroz e de milho (SONG; CHEONG e CHOI, 2007). Cultivada há mais de 5.000 anos é provavelmente originária da Ásia Central, em especial do noroeste da Índia e do Afeganistão. *A. cepa* é conhecida apenas como planta cultivada, não sendo conhecida em sua forma silvestre (BREWSTER, 2008). A espécie foi introduzida no Brasil com a chegada de imigrantes europeus, em especial os portugueses, com cultivo inicial em Pelotas no Rio Grande do Sul, no início do século XIX (FRANÇA; CANDEIA, 1997).

A. cepa é uma das hortaliças mais disseminada no mundo, sendo consumida desidratada, processada, industrializada, mas preferencialmente em saladas *in natura*. É considerada como alimento nutracêutico capaz de prevenir doenças como gripes, diabetes, arteriosclerose, dentre outras, além de fortalecer o sistema imunológico. A mesma possui também um teor elevado de vitaminas do complexo B. A presença de quercetina, um flavonoide de grande importância, favorece a circulação sanguínea (LANZOTTI, 2006).

Devido à presença de propriedades medicinais e nutricionais é a segunda hortaliça de importância econômica no mundo (EL BALLA; HAMID; ABDELMAGEED, 2013). A cultura destaca-se entre as demais aliáceas cultivadas pelo seu volume de produção e valor econômico. Segundo a FAO (2019) os maiores produtores mundiais são os países do continente asiático, principalmente a China e a Índia, que contribuíram com 24,8% e 22,9%, respectivamente, da produção mundial. Os Estados Unidos é o terceiro maior produtor mundial de cebola, enquanto que o Brasil ocupa a décima segunda posição (FAO, 2019). De acordo com os dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2018), em 2017 a produção de cebola no Brasil atingiu 1.719.412 t em uma área de 58.001 ha, alcançando um rendimento médio de 29,6 t/ha e 1,8% da produção mundial.

No Brasil o cultivo ocorre desde a Região Sul até a Região Nordeste. Dentre as regiões produtoras de cebola, o Sul é responsável por 47,7% da produção brasileira, o Nordeste (Bahia e Pernambuco) 21,7%, o Sudeste (São Paulo, Minas Gerais e Espírito Santo) por 22,5% e o Centro-Oeste (Goiás e Distrito Federal) por 8,1% (IBGE, 2017). A produção da hortaliça no Nordeste foi de 365.961 t em 2017, numa área de

12.878 ha, tendo como os maiores produtores os estados da Bahia e Pernambuco que contribuíram com 362.650 t, representando 99% da produção regional e 21,5% da produção nacional (AGRIANUAL, 2018). A maior produção da cebolicultura ocorre predominantemente nas regiões do Baixo e Médio São Francisco, isso porque essa região é favorecida pelas condições climáticas que permitem o cultivo durante todo o ano, com concentrações de plantio nos meses de janeiro a março. Essa atividade é realizada especialmente por pequenos produtores (KIILL; RESENDE; SOUZA, 2007).

Características botânicas

A cebola é uma planta herbácea, monocotiledônea com cerca de 60 cm de altura, possuindo folhas grandes que podem ser cerosas ou não e são dispostas alternadamente em duas fileiras. As bainhas foliares formam uma estrutura firme comumente chamada de caule, mas que, na realidade, é um pseudocaule. O caule verdadeiro está localizado abaixo da superfície do solo e é composto por um disco achatado situado na extremidade inferior do bulbo (FILGUEIRA, 2008).

As raízes emitidas são fasciculadas, com pouca ramificação, concentrando-se nos primeiros 30 cm do solo. O bulbo é a parte comercial da cebola, que apresenta capacidade em rebrotar, composto de vários catafilos sobrepostos e podem apresentar diferentes formatos, cor, pungência e tamanhos. A heterogeneidade dessas características na espécie esta associada a alta taxa de polinização cruzada (OLIVEIRA, 2003).

A flor da *A. cepa* apresenta androceu composto por seis estames (três internos e três externos) e gineceu formado por três carpelos unidos com um único pistilo e perianto com seis segmentos, estando encerrada por brácteas. As anteras dos três estames internos abrem-se primeiro e, uma após outra, liberam o pólen (MCGREGOR, 1976). Sendo assim, os órgãos sexuais masculinos amadurecem antes dos femininos e deste modo, os estames liberam o pólen antes da maturação do estigma.

A inflorescência é do tipo umbela (Figura 1), possui um número de flores que varia de 50 a 2000 por umbela, suas flores se abrem para produção de sementes gradativamente em um período de quatro semanas, tendo abertura máxima a partir da segunda semana, o que permite que ocorra autopolinização, uma vez que nesse intervalo de tempo há estames que liberam seu pólen e estigmas que são receptivos (BREWSTER; RABINOWITCH, 1990; OLIVEIRA et al, 2015).

No entanto, a falta de sincronia entre a maturidade dos órgãos sexuais favorece a polinização cruzada por insetos, principalmente por himenópteros (espécies de abelhas) e dípteros (moscas) que são os principais agentes polinizadores (KILL; RESENDE e SOUZA, 2007). O fruto é uma cápsula com três lóbulos, em que cada um deles possui de duas a três sementes com formato irregular e de cor preta.

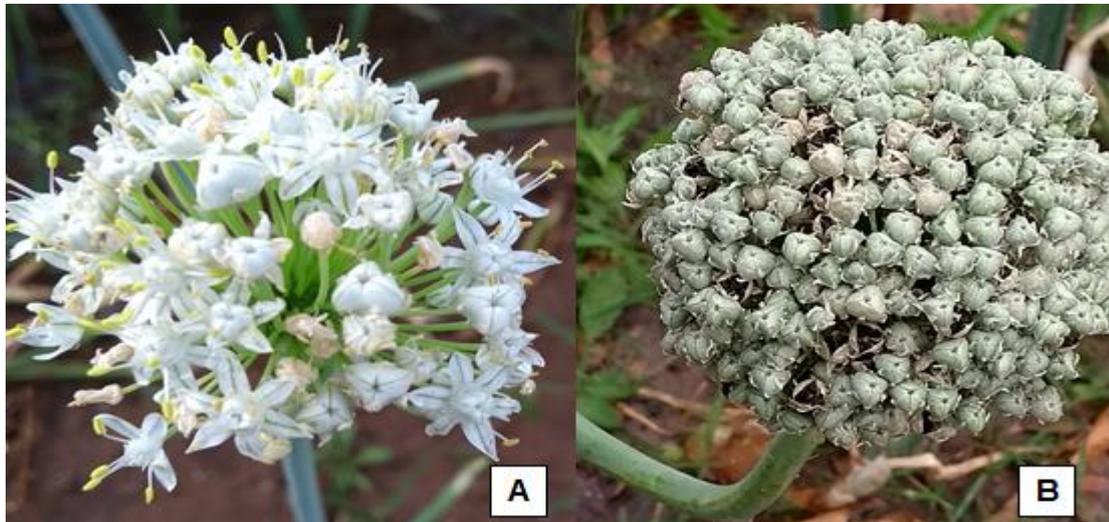


Figura 1. Umbela de cebola. A- Abertura das flores, B- Fechamento das flores (Produção de sementes).

A cebola é uma oleracéa bienal de ciclo biológico composto por duas etapas: vegetativa e reprodutiva. A fase vegetativa ocorre no primeiro ano com a formação de bulbos a partir das sementes, e a reprodutiva no segundo ano com o florescimento e a produção de sementes a partir do bulbo. Para que ocorra essa transição da fase vegetativa para fase reprodutiva é necessário baixas temperaturas, sendo essa a condição ideal para diferenciação nas gemas florais induzidas por faixas de temperatura ótima de 9 a 13 °C (MELO, 2007). Em regiões de clima temperado a subtemperado a indução do florescimento (processo conhecido como vernalização) ocorre naturalmente devido as baixas temperaturas (LEITE, 2014).

No Brasil apenas a Região Sul atende as condições necessárias para produção de sementes sob condições naturais. No entanto, regiões com temperaturas elevadas, como no Nordeste, a vernalização ocorre artificialmente em câmara fria à temperatura de 8 °C e umidade relativa de 50%, por um período de 90 a 120 dias (AGUIAR et al, 1983). Ao fim da vernalização os bulbos são plantados no campo para fase reprodutiva, onde os mesmos emitem escapos florais visando à produção de sementes (MELO, 2007).

Segundo Teixeira et al (2007), a produção de sementes de populações adaptadas ao Vale do São Francisco é diferente de regiões de clima temperado a subtemperado: as sementes são obtidas durante o período de doze meses, sendo quatro meses para produção do bulbo, três a quatro meses para vernalização, em câmaras frias, e quatro meses para produção e beneficiamento das sementes.

A espécie *A. cepa* é altamente exigente com as condições climáticas para a bulbificação, sendo que fatores ambientais tais como fotoperíodo e temperatura limitam a produção da cultura (OLIVEIRA; MAROUELLI e MADEIRA, 2014). A interação entre o fotoperíodo e a temperatura tem influência significativa na formação dos bulbos da cebola: a bulbificação ocorre somente quando esses fatores exigidos pela cultivar são satisfatórios. Quando as condições não são satisfeitas, a planta desenvolve somente folhas, sem que ocorra a formação de bulbo (MANFRON; GARCIA e ANDRIOLO, 1992). No entanto, há uma grande variabilidade entre as cultivares quanto ao mínimo de horas de luz para estimular a bulbificação.

Mascarenhas (1980) classificou as cultivares de cebola de acordo com as exigências de fotoperíodo em curtos ou precoces (11 a 12 horas de luz/dia), médias ou intermediárias (12 a 14 horas de luz/dia) e tardias ou de dias longos (mais de 14 horas de luz/dia). Devido à variação do fotoperíodo de cada região, é necessária a seleção de cultivares adaptadas às condições de luz do ambiente de plantio (Tabela 1). Desse modo, o cultivo na região do Vale do São Francisco deve ser realizado com cultivares de dias curtos ou precoces. Para a adaptação de cultivares de cebolas oriundas de regiões de latitude maiores para regiões de menores latitudes, como no caso do Vale do São Francisco, usam-se técnicas de seleção.

Tabela 1. Variações do fotoperíodo em Estados produtores de cebola em função da latitude e da época do ano.

Latitude	Fotoperíodo (horas de luz)		
	Janeiro	Junho	Julho
0°	12,0	12,0	12,0
09° S (PE)	12,5	11,5	12,5
15° S (DF)	12,5	11,1	12,0
23° S (SP)	13,5	10,0	13,5
32° S (RS)	14,5	9,0	14,5

Fonte: Silva e Vizzotto (1990).

Melhoramento da cebola para o Semiárido brasileiro

O cultivo de *A. cepa* no Brasil teve início com a cebola amarela trazida pelos imigrantes açorianos, que colonizaram a Região Sul do país (FRANÇA; CANDEIA,

1997). A seleção das populações foi feita pelos agricultores, dando origem a duas populações bases: Baía Periforme (derivada de uma cebola portuguesa) e a Pêra (derivada de genótipos egípcios). Outra população, Crioula no Vale do Itajaí em Santa Catarina, resultou do cruzamento dessas duas populações. Essas três populações propiciaram o início do melhoramento no Brasil, principalmente na Região Sul (LEITE et al, 2009; COSTA, 1997). A variabilidade genética dessas três populações possibilitou o cultivo de cebola na Região Sul e possibilitou a formação de um banco de germoplasma (BAG) de grande importância para os programas de melhoramento de cebola em todo o país (SANTOS; OLIVEIRA, 2011).

No Submédio São Francisco foi introduzida a cebola “Amarela chata das canárias” no período de 1930. No fim da década de 50, a produção dessa hortaliça se expandiu no Vale do São Francisco e os principais municípios produtores no estado de Pernambuco eram: Belém do São Francisco, Itacuruba, Cabrobó, Petrolina, Orocó e Santa Maria da Boa Vista.

Na Bahia, os principais eram: Juazeiro, Xique-Xique e Casa Nova. Mas, apesar da boa produtividade, a cebola amarela apresentava fatores limitantes como alta susceptibilidade a doenças, e péssima conservação pós-colheita, o que dificultava o armazenamento para comercialização (COSTA; CANDEIA e ARAÚJO, 1999; WANDERLEY et al, 1978).

Diante de fatores limitantes como os descritos, foram criados programas de melhoramento para, através de seleções, modificarem características como: o formato, o aumento de produtividade, a conservação pós-colheita, o nível de resistência a pragas e doenças, e a adaptação a diferentes condições climáticas, como é o caso da adaptação a diferentes latitudes em relação ao seu centro de origem (COSTA; CANDEIA e ARAÚJO, 1999). Contudo, para que esses programas sejam bem sucedidos é de fundamental importância a escolha dos genitores e o planejamento dos cruzamentos (LANZA; GUIMARAES e SCHUSTER, 2000).

O primeiro programa de melhoramento genético foi implantado no nordeste em 1972 pelo Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), lançando em 1980 cultivares mais adaptadas às condições tropicais brasileiras (latitudes 8-9°) que permitem a bulbificação em dias mais curtos e com temperaturas médias mais elevadas que as observadas na região Sul, denominada como série IPA (WANDERLEY et al, 1973; (BUZAR; OLIVEIRA e BOITEUX, 2007). De acordo com as informações registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o IPA registrou sete

cultivares de cebola (MAPA, 2018). Segundo Santos e Oliveira (2011) as cultivares de cebola proveniente do programa de melhoramento da IPA foram responsáveis pela substituição da cultivar Texas Grano 502, que durante anos dominou cerca de 90% do cultivo de cebola no nordeste. Segundo o IPA (2016), os estados de Pernambuco e da Bahia adotam as cultivares Franciscana IPA-10 e Valeouro IPA-11, roxa e amarela, respectivamente.

Na Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária (EMBRAPA) - CNPH as pesquisas voltadas ao melhoramento iniciaram-se em 1977, visando à disponibilização de cultivares adaptadas às mais variadas condições edafoclimáticas, sistemas de cultivo e preferências regionais (BUZAR; OLIVEIRA e BOITEUX, 2007). Com o desenvolvimento de programas de melhoramento genético de cebola no Vale do São Francisco tornou-se possível a produção de semente de cebola devido à vernalização artificial, e foram desenvolvidas variedades que apresentam alto nível de tolerância a doenças, e adaptação às condições edafoclimáticas da região (LEITE, 2012; OLIVEIRA, 2015). A Embrapa Semiárido registrou ou protegeu três cultivares de cebola para o Nordeste brasileiro: BRS Alfa São Francisco, BRS Rio Vale e BRS Carrancas.

Contudo, um programa de melhoramento deve considerar as características importantes tanto para os agricultores quanto para os consumidores. Para os primeiros, a produtividade associada à qualidade e resistência a doenças são os mais relevantes (QUEIRÓZ, 1999). Para os segundos, a qualidade associada à quantidade mínima de resíduos de agrotóxicos é o mais importante. Assim, os estudos realizados pelo IPA e pela EMBRAPA visam além do desenvolvimento de germoplasmas dotados de elevado potencial produtivo, alta tolerância ao “Trips” (*Thrips tabaci*), resistência ao “Mal-de-sete voltas” (*Colletotrichum gloeosporioides*) (COSTA et al, 1975) e a “Raiz rosada” (*Pyrenochaeta terrestris*), assim como melhor conservação pós-colheita, pungência moderada e adaptação de genótipos às condições ambientais locais. (CANDEIA et al, 1987; COSTA, CANDEIA e ARAÚJO, 1999).

A contribuição dos programas de melhoramento para o desenvolvimento e sustentabilidade da cebolicultura no Nordeste brasileiro ocorreu através da disponibilização de cultivares que atendessem as exigências dos consumidores. Em 2004 a Embrapa lançou a variedade BRS Alfa São Francisco, adaptada as condições de cultivo do segundo semestre do Nordeste brasileiro (COSTA et al, 2005). Deste modo, o programa de melhoramento de cebola desenvolvido na Embrapa Semiárido

tem contribuído para o desenvolvimento da cultura na região Semiárida. De acordo com o MAPA (2018), a EMBRAPA registrou 14 cultivares de cebola para todo o Brasil.

Sistema reprodutivo em cebola

O conhecimento do sistema reprodutivo da planta é de vital importância, pois servirá como base para auxiliar o melhorista na seleção dos melhores métodos a serem usados, já que os métodos são diferentes em função do sistema de reprodução da espécie (FERREIRA et al, 2004; FRYXELL, 1957). A descendência de uma espécie pode ser produzida de modos reprodutivos distintos, dentre esses está o cruzamento de modo aleatório e a autofecundação. O sistema reprodutivo, em conjunto com os mecanismos de dispersão de pólen e sementes, tem uma profunda influência na estrutura genética de uma população (FREITAS et al, 2004; RAJESH et al, 2014).

O sistema de reprodução da *A. cepa* é sexuada, sendo esse o sistema mais comum entre as angiospermas (KARASAWA et al, 2007). Na reprodução sexuada ocorre a formação de gametas (meiose), fusão dos gametas masculino e feminino (fertilização) para formação de um embrião e posteriormente da semente. A cebola é classificada como planta alógama, sendo essa classificação devido à predominância da polinização cruzada ou aberta (BREWSTER; RABINOWITCH, 1990). Todavia, para o uso desse sistema, as angiospermas empregam diferentes estratégias reprodutivas que estimulam a alogamia (KARASAWA et al, 2007).

A *A. cepa* apresenta como estratégia flores hermafroditas e dicogamia-protândrica. A dicogamia é definida pelo amadurecimento do órgão feminino (gineceu) e do órgão masculino (androceu) em períodos distintos. A protândria ocorre quando as anteras têm os grãos de pólen maduros, mas os estigmas não estão receptivos, uma vez que as anteras emitem quase todo o pólen durante 8 e 17 horas, 48-72 horas antes que o estigma torne-se receptivo, caracterizando a dicogamia protândrica como um sistema de autoincompatibilidade que evita a autofertilização e favorece a polinização cruzada por insetos (BREWSTER; RABINOWITCH, 1990; OLIVEIRA et al, 2015).

A polinização cruzada (alogamia) é a forma reprodutiva que possui maior capacidade de rearranjo da diversidade genética produzindo infinitas combinações (RICHARDS, 1997). No caso das espécies com predomínio de alogamia a variabilidade genética é distribuída dentro das populações (HAMRICK; GODT, 1997). Estudos do sistema de reprodução de espécies tropicais têm demonstrado que a

maioria das espécies alógamas, ou seja, de polinização cruzada, possuem sistema mistos, com predominância da alogamia (SOUZA; KAGEYAMA e SEBBENN, 2003). De acordo com as convenções, uma espécie deve ser considerada mista sempre que apresentar mais de 5% autofecundação e menos de 95% de cruzamentos (KARASAWA et al, 2007)

As plantas alógamas são caracterizadas pela heterozigose, segundo Weir e Basten (1990), sendo que a frequência de heterozigotos é um indicador de grande relevância da diversidade genética, pois cada heterozigoto é constituído de alelos diferentes, o que representa melhor a variação existente.

Estimativa da taxa de polinização

O sistema reprodutivo da planta exerce influência sobre a estrutura genética de uma espécie e isso ocorre porque é através do modo reprodutivo que a frequência dos genótipos dos indivíduos das gerações sucessivas é determinada (BROWN, 1990; HAMRICK; LINHART e MITTON, 1979). Assim, é primordial conhecer o sistema de cruzamento da espécie, e estimar a taxa de cruzamento a fim de estabelecer os parâmetros genéticos para conservação ou melhoramento de uma espécie (PENHA et al, 2016; SEBBENN et al, 2000).

Segundo Faleiro; Pires e Lopes (2003), a estimativa da taxa de polinização cruzada entre plantas pode ser realizada através da presença de características de natureza dominante e que sejam facilmente visualizadas entre os genótipos avaliados. De acordo com Jain (1979), a estimativa da taxa de polinização cruzada por meio da utilização do fenótipo como marcador, é realizada através da contagem de indivíduos dominantes na progênie de genótipos recessivos.

Estudos de estimativa de taxa de polinização cruzada em *A. cepa*, utilizando marcador morfológico foram reportados por Van Der Meer e Van Bennekom (1968,1972); Currah e Ockendon (1983). Nesses estudos foram observadas taxas de cruzamento variando de 29 a 56% e 23 a 56%, respectivamente. No entanto, a estimativa da taxa de polinização cruzada com base no fenótipo pode ser inviabilizado devido a ausência de tais características, sendo recomendado o uso de marcadores moleculares de DNA (ALZATE-MARIN et al, 2005).

Segundo Conte (2004), para a determinação da taxa de polinização cruzada podem ser empregados modelos multilocos que propiciam a obtenção de estimativas mais adequadas, pois levam em consideração as combinações genotípicas

envolvendo todos os locos. Para Santos e Lima Neto (2011), a situação ideal para a estimativa da taxa de polinização cruzada com microssatélites ou SSR, é de homozigose nos parentais e de alelos em heterozigose nos descendentes. Na ausência dessas condições, segundo Nadeem et al (2014) a avaliação para a estimativa pode ser realizada através da comparação dos alelos compartilhados para um locus específico, com o progenitor masculino.

Entretanto, trabalhos para estimar a taxa de cruzamento em *A. cepa* por meio de marcadores moleculares microssatélites ou SSR ainda não foram reportados na literatura. Porém, há relatos de trabalhos sobre estudo da taxa de polinização cruzada por meio de marcadores microssatélites em outras culturas. Os microssatélites têm sido empregado com sucesso para estimar as taxas de cruzamento em *Solanum tuberosum* (QUAIN et al, 2018), *Carthamus tinctorius* (RAVI, 2014), *Brassica napus* (SOENGAS et al, 2011), *Capsicum annum* (JUSTINO et al, 2018).

No entanto, além dos microssatélites, os marcadores moleculares RAPD e AFLP também são utilizados para estimar taxas de polinização cruzada (GAIOTTO; BRAMUCCI e GRATTAPAGLIA, 1997; MULUVI et al, 2004). Apesar das limitações dos marcadores RAPD e AFLP, devido à sua dominância, Ritland (2002) demonstrou que essa limitação pode ser superada com estimação multilocos para alelos apresentando frequência intermediária por meio do programa MLTR (Multilocus Mating System Program, versão 1.1). O AFLP é um marcador de DNA robusto que produz grande número de marcas de resolução específica, devido à digestão com enzimas de restrição e à rápida detecção de polimorfismo por PCR (GAIOTTO; BRAMUCCI e GRATTAPAGLIA, 1997); além de possibilitar ampla cobertura de um genoma. Santos et al (2011), utilizando esse marcador, concluíram que o umbuzeiro (*Spondias tuberosa*) é predominantemente de polinização cruzada.

Segundo Oliveira; Carvalho e Rosado (2002) os marcadores microssatélites ou SSR se destacam, pois além de quantificar o processo de transmissão de genes entre plantas, eles descrevem a transmissão de genes entre gerações e permitem uma ampla cobertura genômica para a espécie, além de não apresentar a limitação dos marcadores dominantes, sendo então de mais fácil execução. Santos e Lima Neto, (2011) estimaram a taxa de polinização da manga utilizando os marcadores AFLP e microssatélite, chegando a resultados muito próximos entre si, demonstrando dessa forma a eficiência de ambos os métodos.

Microssatélites

O surgimento das técnicas de marcadores moleculares com capacidade de detectar variabilidade genética trouxe avanços para o melhoramento genético de plantas. A principal contribuição dessas técnicas foi a possibilidade de analisar o genótipo de um indivíduo, excluindo a influência ambiental (TOPPA; JADOSKI, 2013). Os marcadores moleculares são capazes de analisar a variabilidade contida no genoma de uma espécie (BERED; BARBOSA NETO e CARVALHO, 1997). Por esse motivo, são utilizados eficientemente em estudos de caracterização e de diversidade genética (SOUZA, 2015). Segundo Faleiro; Pires e Lopes (2003) marcadores moleculares podem ser utilizados para a confirmação de fecundação cruzada em plantas. E por se tratar de análise de DNA a aplicação da metodologia é confiável e rápida, podendo ser realizada em estágios iniciais da planta, o que permite a confirmação da hibridação em estágios iniciais do suposto híbrido.

Microssatélites é uma classe de sequências de DNA repetitivo que está presente em todos os organismos, tanto nos eucariontes quanto nos procariontes. Consistem em repetições de sequências geralmente de dois a seis nucleotídeos (RAMALHO et al, 2012). Os marcadores moleculares do tipo SSRs consistem em um par de oligonucleotídeos que reconhece sequências de DNA e flanqueiam um segmento de DNA repetitivo. Os segmentos repetitivos são sequências de nucleotídeos que consistem em inúmeras repetições lado a lado na fita de DNA (YOUNG; VIVIER, 2010).

Conforme Karasawa et al (2007), a sequência amplificada através de microssatélites é visualizada por meio de técnicas de eletroforese mediante o uso de gel de poliacrilamida ou de agarose em alta concentração para uma melhor separação dos fragmentos. A seleção adequada do gel depende do número de nucleotídeos do elemento repetido no microssatélite que se diferem por poucos pares de bases (pb). A visualização dos fragmentos no gel pode ser feita diretamente por coloração de brometo de etídio, nitrato de prata ou com marcadores coloridos fluorescentes (DIWAN; CREGAN, 1997).

Apesar da ampla disponibilidade de marcadores moleculares em outras espécies de importância econômica, informações referente a marcadores em *A. cepa* e sequências de nucleotídeos ainda são bastante limitadas, e alguns tem aplicações complexas, fato esse atribuído ao tamanho enorme do genoma da espécie (NANDHAN et al, 2015; SANTOS et al, 2010a). Fischer e Bachmann (2000) e Jakse

et al (2005) foram os primeiros a desenvolverem marcadores moleculares de cebola SSR. Novos microssatélites para caracterização molecular de germoplasma de cebola foram desenvolvidos por Baldwin et al (2012), e Radhika et al (2013) baseando-se em sequenciamento de sequências expressas (ESTs). De acordo com Radhika et al. 2013, a vantagem da utilização dessa técnica é que as sequências já estão disponíveis em bibliotecas genômicas e resultam em microssatélites com custos mais baixos.

Embora a cebola apresente um importante papel socioeconômico, trabalhos relativos à estimativa da taxa de polinização cruzada de cebola por meio de microssatélites ainda são escassos. No entanto, alguns estudos para avaliar a taxa de polinização cruzada por meio de marcadores microssatélites vêm sendo realizados em outras culturas.

Santos e Lima Neto (2011), estimaram a taxa de polinização cruzada entre duas variedades de manga no Vale do São Francisco utilizando SSR, observando que a taxa variou de 0,83 a 0,91, com base em três microssatélites. De acordo com esses autores, os SSRs utilizados são indicados para explicarem a origem de mudas das variedades de manga. Karasawa et al (2007), utilizaram oito microssatélites em três populações brasileiras de *Oryza glumaepatula* para determinar os parâmetros do sistema de acasalamento. As taxas de cruzamentos variaram de 0,011 a 0,223 nas três populações, indicando divergência nas taxas de cruzamento entre as populações de *O. glumaepatula*, onde predominou a autofecundação.

Desenvolvimento de híbridos e heterose em cebola

A utilização de híbridos é uma estratégia de grande importância uma vez que a produtividade pode ser superior em relação a algumas cultivares de polinização aberta (OP) (RAGASSI et al, 2012). Segundo Santos et al (2008), os sistemas de macho-esterilidade gênico-citoplasmáticas (CMS) são a base para a produção de híbridos de cebola, que requer a identificação de linhagens macho-estéreis, linhagens mantenedoras da macho esterilidade e de linhagens polinizadoras com boa capacidade de combinação, sendo essas linhagens conhecidas como A, B e C, respectivamente.

Linhagens macho-estéreis (Smsms), denominada de linhagem “A”, podem ser mantidas por sementes quando cruzadas com uma linhagem mantenedora, denominada de linhagem “B”, a qual possui citoplasma normal (N) para macho-fertilidade e genótipo *msms* para o loco restaurador da fertilidade. A produtividade dos

híbridos de cebola tem sido de até 192% em relação ao parental mais produtivo e de até 367% em relação a algumas cultivares de polinização aberta (SANTOS et al, 2016).

Contudo, no Nordeste brasileiro as cultivares mais importantes são populações proveniente de polinização aberta (OP), como Vale Ouro IPA 11, Franciscana IPA 10, TEG 502 e BRS Alfa São Francisco, em contraste com regiões que adotam maior nível tecnológico, como Irecê – BA, que fazem amplo uso de híbridos. Para Santos et al (2010b), duas razões explicam o uso de OP na região, o elevado preço das sementes híbridas e a susceptibilidade de alguns híbridos ao *Colletotrichum gloeosporioides*, responsável pela doença fúngica mal de sete voltas. Outro fator é a dificuldade do desenvolvimento de híbridos tropicais adaptados ao Vale do São Francisco.

Segundo Ferreira (2017), para a produção de híbrido de cebola o ideal é que as linhas A sejam totalmente estéreis, enquanto que as linhas B sejam totalmente férteis. No entanto, esse processo de identificação e produção de híbrido por meio de programa de melhoramento convencional em regiões de clima temperado, é uma atividade que leva em torno de 15 a 20 anos (PIKE, 1986).

Entretanto, nas regiões de clima tropical, como o Nordeste brasileiro, leva em torno de quatro a oito anos, devido o ciclo para produção de sementes ser reduzido para um ano (FERREIRA, 2017). Contudo, cerca de 90% das sementes comercializadas nas regiões de clima temperado correspondem a híbridos (SHIGYO; KIK, 2008), e no Brasil cerca de 75% da área plantada baseia-se na produção de cebola de polinização livre (OP) (COSTA; RESENDE e YURI, 2016). Na região do Vale do São Francisco (VSF) são cultivadas predominantemente cebola do tipo 'baia', de bulbos amarelos ou roxos provenientes de OP.

Segundo Li et al (2008), a base genética da heterose é atribuída a hipótese da dominância e a hipótese da sobredominância. Ambas as hipóteses foram mencionadas pela primeira vez por Davenport (1908), e Shull (1908), respectivamente. A teoria da dominância atribui o vigor híbrido ou heterose, à presença de alelos dominantes, que inativam a funcionalidade dos alelos recessivos deletérios ou neutros, contribuído por um dos pais (AQUAAH, 2012; LI et al, 2008). Enquanto a teoria da sobredominância atribui a heterose, à presença de alelos em heterozigose, assumindo que a heterozigose é a responsável pela heterose.

A heterose pode ser estimada de três formas: em relação a média dos parentais (heterose média), a média do melhor parental (heterobeltiose), e em relação a cultivar

comercial padrão. Os resultados indicam aumento ou diminuição do vigor sobre um melhor valor parental ou mediano (RAI; RAI, 2006).

Segundo Aquaah (2012), para características como produtividade, é desejável a heterose positiva, enquanto para maturação precoce, são desejadas heteroses negativas para os três tipos de heteroses. Para Brown; Caligari e Campos (2014), a heterose em relação ao melhor pai é positiva, quando a progênie da variedade sintética (Syn-1) excede o desempenho do melhor pai, atribuindo essa superioridade à presença da sobredominância.

Variedades sintéticas

Variedade sintética (VS) é uma população de polinização aberta mantida isolada que foi derivada de cruzamento ao acaso de plantas endógamas, linhas ou outros genótipos produzidos por alguma seleção (SMITH, 2004). Para Poehlman e Sleper (1995), VS é uma geração avançada de mistura de sementes de linhagens, clones, linhas endogâmicas ou híbridos entre eles, propagadas por um limitado número de gerações por polinização aberta. Ainda segundo esses autores, as linhagens, clones e linhas endogâmicas são mantidas para permitir a reconstituição da variedade sintética a intervalos regulares.

Populações compostas ou simplesmente compostos diferem das variedades sintéticas por serem resultantes do intercruzamento de várias populações de polinização aberta, em vez de linhas endogâmicas, que não são reconstituídas a certos intervalos (POEHLMAN; SLEPER, 1995; SMITH, 2004). As diferenças entre compostos e variedades sintéticas são apresentadas resumidamente na Tabela 2.

A criação de variedades sintéticas foi sugerida inicialmente por Hayes e Garber (1919) para o melhoramento de milho. Segundo Kutka (2011) o cultivo de variedade sintética de milho em regiões dos trópicos proporcionou aos agricultores maior rendimento, e baixo custo de sementes. Segundo Márquez-Sánchez (2008) e Sahagún-Castellanos (1994) a produção da variedade sintética pode ser obtida na primeira geração de cruzamento aleatório.

O uso de variedades sintéticas permite a exploração parcial do vigor de heterose, principal razão da superioridade dos híbridos (ALLARD, 1971), pois aumenta a heterozigosidade e a heterogeneidade da estrutura populacional, resultando no aumento na estabilidade da produtividade (STELLING; EBMEYER e LINK, 1994). Ferreira et al (1995) enfatizam que a heterose e a capacidade de

combinação dos pais dependem diretamente da diversidade genética entre eles, e a chance de encontrar combinações promissoras é maior quando se utiliza materiais mais divergentes. Segundo Geiger e Miedaner (1999), o cruzamento de linhagens não aparentadas exibe alta heterose para características de desenvolvimento e produtividade. Desse modo, as variedades resultantes desses cruzamentos seriam tão produtivas quanto qualquer híbrido, e em contraste com o híbrido o produtor pode reutilizar a semente colhida sem nenhuma perda de produtividade (MAGNAVACA; PARENTONI, 1990).

Tabela 2. Comparação entre variedade sintética e variedade composta.

Variedade Sintética	Variedade Composta
Cruzando o número de linhas em todas as combinações que combinam bem entre si.	Misturando as sementes de várias linhas fenotipicamente excelentes por meio da polinização aberta para produzir cruzamentos em todas as combinações entre as linhas.
Número limitado de parentais envolvidos (4-10).	Muitos parentais estão envolvidos.
É testado a Capacidade Geral de Combinação (CGC).	Não é testado a Capacidade Geral de Combinação (CGC).
Custo menor que a variedade composta.	O custo da semente é menor que o híbrido.
Mostra menos heterose que híbrido.	Mostra mais heterose do que sintética.
Pode ser reconstituída.	Não pode ser reconstituída.
Variedade de fácil manutenção	Variedade de difícil manutenção.
Previsão de desempenho possível.	Não é possível previsão de desempenho.

Fonte: Singh (2014).

Segundo Smith (2004) as variedades sintéticas foram desenvolvidas para uso em regiões com baixo desenvolvimento econômico, onde não há estrutura para a produção de sementes híbridas. Allard (1971) menciona que as vantagens de desenvolver variedades sintéticas é o baixo custo na produção de semente, e maior capacidade de adaptação ao ambiente. Para Simó et al (2014), a heterose da VS é gerada pelo cruzamento de indivíduos geneticamente contrastantes, e considerada um fator importante de rendimento nas cultivares de OP e VS (BROWN; CALIGARI e CAMPOS, 2014). Genótipos inicialmente cruzados para produzir uma VS são

representados por geração Syn-0, enquanto Syn-1 e Syn-2 representa sementes produzidas pelo cruzamento de progenies Syn-0 e Syn-1, respectivamente (SMITH, 2004).

Especificamente para cebola, o desenvolvimento de híbridos envolve a identificação de linhas mantenedoras da esterilidade, linhas estéreis e uma linha polinizadora, que requer um período em torno de oito anos (HAVEY, 2013), resultando no maior preço para aquisição das sementes híbridas. Por essa razão predomina no nordeste o uso de sementes de cebola de polinização aberta, de menor custo, sendo que apenas agricultores com maior poder aquisitivo utilizam dessa tecnologia (SANTOS et al, 2010b; WELU, 2016). O desenvolvimento de variedades sintéticas de cebola poderá resultar em ganhos de produtividade, pela exploração parcial da heterose, considerando que as empresas públicas não desenvolveram a tecnologia para produção de híbridos de cebola para o Brasil.

Estudo para avaliar a tolerância da primeira geração de variedade sintética de *Lolium arundinaceum* à salinidade, foi realizado por Amini e Sadeghi (2017). Muraya; Omolo e Ndirangu (2006) desenvolveram duas variedades sintéticas de *Zea mays* com alta produção. Em estudo com VS de milho, os resultados encontrados por Musa e Farid (2018) indicaram que as variedades sintéticas de *Z. mays* tolerante ao estresse hídrico apresentaram o maior e melhor potencial de rendimento.

Em *A. cepa*, segundo Galmarini (1994), os pioneiros em variedade sintética de cebola foi José Crnko e Ciro Cavia, que deram início e à seleção de variedades em 1948, utilizando populações locais de Valenciana. O resultado dessa seleção foi a variedade sintética Valcatorce INTA (GALMARINI, 1994, 2000). Ainda segundo Galmarini (2000), José Crnko e Ciro Cavia foram lançadas as variedades sintéticas Valenciana Synthetics 1 and 2 em 1958. A Valenciana Synthetic 14 e a Valenciana Synthetic 15, em 1966 e 1970, respectivamente, por Crnko e Lona (CRNKO, 1998). Dos lançamentos, apenas as VS 1 e 14 de Valenciana foram utilizadas para posterior reprodução (GALMARINI, 2000).

O desenvolvimento de híbridos de cebola para a região do Vale do São Francisco através da produção de variedades sintéticas é realizada por meio da exploração parcial do vigor de heterose a fim de se obter cebola com boas características de bulbo, com alta produtividade e adaptação as condições edafoclimáticas nacionais.

REFERÊNCIAS

AGRIANUAL. **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: IEG/FNP, 2018.

AGUIAR, P. A. A. et al. Vernalização de bulbos de cebola na produção de sementes de cebola na região do submédio São Francisco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 18, n. 7, p. 741-746, 1983.

ALLARD, R. W. Variedades Sintéticas. In: ALLARD, R. W. **Princípios do Melhoramento Genético das Plantas**. São Paulo: Edgard Blucher, 1971. p. 381.

ALZATE-MARIN, A. L. et al. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 333–342, 2005.

AMINI, F.; SADEGHI, D. Assessment of salinity tolerance in polycross progenies of tall fescue [*Lolium arundinaceum*]. **Australian Journal of Crop Science**, v. 11, n. 6, p. 662–667, 2017.

AQUAAH, G. **Principles of Plant Genetics**. 2. ed. United States: WILEY Blackwell, 2012.

BALDWIN, S. et al. Development of robust genomic simple sequence repeat markers for estimation of genetic diversity within and among bulb onion (*Allium cepa* L.) populations. **Molecular Breeding**, v. 30, n. 3, p. 1401–1411, 2012.

BERED, F.; BARBOSA NETO, J. F.; CARVALHO, F. I. F. Marcadores moleculares e sua aplicação no melhoramento genético de plantas. **Ciência Rural**, v. 27, n. 3, p. 513–520, 1997.

BREWSTER, J. L. **Onions and Other Vegetable Alliums**. 2. ed. London: CABI, 2008.

BREWSTER, J. L.; RABINOWITCH, D. **Onions Allied Crops**. 1. ed. New York: CRC Press Taylor & Francis Group, 1990.

BROWN, A. H. D. Genetic Characterization Of Plant Mating Systems. In: BROWN, A. et al. **Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources**. California: Sinauer Associates, 1990. p. 145–162.

BROWN, J.; CALIGARI, P.; CAMPOS, H. Breeding Schemes. In: BROWN, J.; CALIGARI, P.; CAMPOS, H. **Plant Breeding**. 2. ed. India: WILEY Blackwell, 2014. p. 296.

BUZAR, A. G. R.; OLIVEIRA, V. R.; BOITEUX, L. S. Estimativa da diversidade genética de germoplasma de cebola via descritores morfológicos, agrônômicos e bioquímicos. **Horticultura Brasileira**. v. 25, p. 527–532, 2007.

CANDEIA, J. A. et al. Cultivar de cebola “Pêra Norte IPA-7”. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 5, n. 2, 1987.

CONTE, R. **Estrutura genética de populações de *Eutерpe edulis* Mart. submetidas à ação antrópica utilizando marcadores alozímicos e microssatélites**. 2004. 124f Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo.

COSTA, C. P. et al. **Resistência de cultivares de cebola (*Allium cepa* L.) ao "Mal-das-Sete-Voltas" (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) em condições de campo**. Petrolina: BRASCAN NORDESTE/ SUDENE/ IPA, 1975. p. 4.

COSTA, C. P. Germoplasma de cebola brasileiro e seu uso no melhoramento. IX Seminário Nacional de Cebola. **Resumos**. Pelotas: Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado, 1997, p. 2.

COSTA, N. D. et al. Alfa São Francisco: variedade de cebola para cultivo de verão. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 2, p. 3–6, 2005.

COSTA, N. D.; CANDEIA, J. A.; ARAÚJO, M. T. Importância econômica e melhoramento genético da cebola no Nordeste do Brasil. In: QUEIROZ, M. A.; GOEDERT, C. O. .; RAMOS, S. R. R. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido; Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia: EMBRAPA, 1999.

COSTA, N. D.; RESENDE, G. M. DE; YURI, J. E. Cebola: escolha adequada. **Cultivar HF**, v. 14, n. 97, p. 6–8, 2016.

CRNKO, J. Historia de la Estación Experimental Agropecuaria INTA La Consulta. **Libro del cincuentenario 1948-1998**. 1998.

CURRAH, L.; OCKENDON, D. J. Onion pollination by blowflies and honeybees in large cages. **Annals of applied biology**, v. 103, n. 3, p. 497–506, 1983.

DAVENPORT, C. B. Degeneration, albinism and inbreeding. **Science**, v. 28, n. 718, p. 454–455, 1908.

DIWAN, N.; CREGAN, P. B. Automated sizing of fluorescent-labeled simple sequence repeat (SSR) markers to assay genetic variation in soybean. **Theor Appl Genet**, v. 95, p. 723–733, 1997.

EL BALLA, M. M. A.; HAMID, A. A.; ABDELMAGEED, A. H. A. Effects of time of water stress on flowering, seed yield and seed quality of common onion (*Allium cepa* L.) under the arid tropical conditions of Sudan. **Agricultural Water Management**, v. 121, p. 149–157, 2013.

FALEIRO, F. G.; PIRES, J. L.; LOPES, U. V. Uso de Marcadores Moleculares RAPD e microssatélites visando a confirmação da fecundação cruzada entre *Theobroma cacao* e *Theobroma grandiflorum*. **Agrotrópica**, v. 15, n. 1, p. 41–46, 2003.

FAO. **Food Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>>. Acesso em: 26 jan. 2019.

FERREIRA, D. F. et al. Métodos de avaliação da divergência genética em milho e suas relações com os cruzamentos dialélicos. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 30, n. 9, 1995.

FERREIRA, M. A. J. F. et al. **Implicações da expressão sexual e do sistema reprodutivo de melancia em programas de pré-melhoramento**. 2004. Disponível em:
<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CENARGEN/24723/1/bp065.pdf>>. Acesso em: 11 dez. 2018.

FERREIRA, R. R. **Identificação molecular do locus restaurador da macho-fertilidade (Ms), tipo de citoplasma e viabilidade de pólen em acessos de cebola (Allium cepa L.)**. 2017. 114f Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

FILGUEIRA, F. A. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna para a produção de hortaliças**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2008. 421 p.

FISCHER, D.; BACHMANN, K. Onion microsatellites for germplasm analysis and their use in assessing intra- and interspecific relatedness within the subgenus *Rhizirideum*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 101, n. 1–2, p. 153–164, 2000.

FRANÇA, J. G. E.; CANDEIA, J. A. Development of short-day yellow onion for tropical environment of the brazilian northeast. **Acta Horticulturae**, v. 433, n. 29, p. 285–290, 1997.

FREITAS, M. L. et al. Mating system of a population of *Myracrodruon urundeuva* F.F. & M.F. Allemão using the AFLP molecular marker. **Gen. Molecular Biology**, v. 27, n. 3, p. 425–431, 2004.

FRYXELL, P. A. Mode of reproduction of higher plants. **The Botanical Review**, v. 23, n. 3, p. 135–233, 1957.

GAIOTTO, F. A.; BRAMUCCI, M.; GRATTAPAGLIA, D. Estimation of outcrossing rate in a breeding population of *Eucalyptus urophylla* with dominant RAPD and AFLP markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 95, n. 5–6, p. 842–849, 1997.

GALMARINI, C. R. Onion Breeding in Argentina. **Acta Horticulturae**, v. 358, p. 205–210, 1994.

GALMARINI, C. R. Onion cultivars released by La Consulta Experiment Station, INTA, Argentina. **HortScience** v. 35, n. 7, p. 1360–1362, 2000.

GEIGER, H.; MIEDANER, T. Hybrid rye and heterosis. In: COORS, J.; PANDEY, S. **The Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops**. United States: American Society of Agronomy, 1999. p. 521

HAMRICK, J. L.; LINHART, Y. B.; MITTON, J. B. Relationships between life history characteristics. **Ann. Rev. Ecol. Syst.**, v. 10, p. 173–200, 1979.

HAMRICK, J. L.; GODT, M. J. W. Allozyme diversity in cultivated crops. **Crop Science**, v. 37, n. 1, p. 26, 1997.

HAVEY, M. J. Single nucleotide polymorphisms in linkage disequilibrium with the Male-fertility Restoration (Ms) locus in open-pollinated and inbred populations of onion. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 138, n. 4, p. 306–309, 2013.

HAYES, H.; GARBER, R. J. Synthetic production of high-protein corn in relation to breeding. **American Society of Agronomy**, v. 2, n. 8, 1919.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola**, v. 30, n. 12, p. 1–82, 2017.

IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_%5Bmensal%5D/Fasciculo_Indicadores_IBGE/estProdAgri_201808.pdf >. Acesso em: 01 Novembro. 2018.

IPA. Instituto Agrônomo de Pernambuco. **Pesquisas sobre cebola são destaques na Revista Campo e Negócios Hortifruti**. 2016. Disponível em: <<http://www.ipa.br/novo/noticia?n=1288>>. Acesso em: 10 dez. 2018.

JAIN, S. K. Estimation of Outcrossing Rates: Some Alternative Procedures. **Crop Science**, v. 19, p. 23–26, 1979.

JAKSE, J. et al. Single nucleotide polymorphisms, indels, and simple sequence repeats for onion cultivar identification. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 130, n. 6, p. 912–917, 2005.

JUSTINO, E. V. et al. Estimate of natural cross-pollination rate of *Capsicum annum* using a codominant molecular marker associated with fruit pungency. **Genetics and Molecular Research**, v. 17, n. 1, 2018.

KARASAWA, M. M. G. et al. Genetic structure of Brazilian wild rice (*Oryza glumaepatula* Steud. Poaceae) populations analyzed using microsatellite markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, n. 2, p. 400–410, 2007.

KIILL, L. H. P.; RESENDE, G. M.; SOUZA, R. J. Botânica. In: COSTA, N. D.; RESENDE, G. M. DE. **Cultivo da cebola no Nordeste**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2007. p. 4–8.

KUTKA, F. Open-pollinated vs. hybrid maize cultivars. **Sustainability**, v. 3, n. 9, p. 1531–1554, 2011.

LANZA, M. A.; GUIMARAES, C. T.; SCHUSTER, I. Aplicação de marcadores moleculares no melhoramento genético. **Informe Agropecuário**, v. 21, n. 204, p. 97–108, 2000.

LANZOTTI, V. The analysis of onion and garlic. **Journal of Chromatography A**, v. 1112, n. 1–2, p. 3–22, 2006.

LEITE, D. L. et al. Melhoramento genético de cebola para as condições tropicais e subtropicais do Brasil. **Revista colombiana de ciências hortícolas**, v. 3, n. 1, p. 18–27, 2009.

LEITE, D. L. **Manejo e conservação de recursos genéticos de cebola (*Allium cepa*) na Embrapa Clima Temperado**. Embrapa Clima Temperado-Circular Técnica, 2012. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/107333/1/circular145.pdf>>. Acesso em: 10 dez. 2018.

LEITE, D. L. **Produção de Sementes de Cebola**. Embrapa Clima Temperado-Circular Técnica, p. 1–9, 2014.

LI, L. et al. Dominance, overdominance and epistasis condition the heterosis in two heterotic rice hybrids. **Genetics**, v. 180, p. 1725–1742, 2008.

MAGNAVACA, R.; PARENTONI, S.N. Cultivares x Híbridos. Conceitos Básicos. **Informe Agropecuário**, v. 14, n. 165, p. 5–8, 1990.

MANFRON, P. A.; GARCIA, D. C.; ANDRIOLO, J. L. Aspectos morfo-fisiológicos da cebola. **Ciência Rural**, v. 22, n. 1, p. 101- 107, 1992.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Registro Nacional de cultivares (RNC)**. Disponível em: <http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php>. Acesso em: 10 dez. 2018.

MÁRQUEZ-SÁNCHEZ, F. A corrected calculation of inbreeding in maize mass selection. **Maydica**, v. 53, n. 3, p. 227, 2008.

MASCARENHAS, M. H. T. Origem e botânica da cebola. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 6, n. 62, p. 15-26, 1980.

MCGREGOR, S. E. Common Vegetables for Seed and Fruit. In: MCGREGOR, S. E. **Insect Pollination Of Cultivated Crop Plants**. 1. ed. United States: United States Department of Agriculture, 1976. p. 411.

MELO, P. C. T. **Produção de sementes de cebola em condições tropicais e subtropicais**. Piracicaba: USP-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007. Disponível em: <http://www.abhorticultura.com.br/downloads/Paulo%20C%3%A9sar-1_Prod_%20sem_cebola.pdf>. Acesso em: 20 maio.2018.

MULUVI, G. M. et al. Estimates of outcrossing rates in *Moringa oleifera* using Amplified fragment length polymorphism (AFLP). **African Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 2, p. 146–151, 2004.

MURAYA, M. M.; OMOLO, E. O.; NDIRANGU, C. M. Development of high yielding synthetic maize (*Zea mays* L.) varieties suitable for intercropping with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Asian Journal of Plant Sciences**, v. 5, n. 1, p. 163–169, 2006.

MUSA, Y.; FARID, M. Advanced yield potential test on synthetic genotype of maize tolerant to drought and low nitrogen. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 157, n. 1, 2018.

NADEEM, M. et al. Hybrid identification, morphological evaluation and genetic diversity analysis of Rosa × Hybrida by SSR markers. **Australian Journal of Crop Science**, v. 8, n. 2, p. 183–190, 2014.

NANDHAN, S. et al. Retrotransposon based TRAP marker displays diversity among onion (*Allium cepa* L.) genotypes. **Scientia Horticulturae**, v. 190, p. 123-127, 2015.

OLIVEIRA, A. E. S. **Seleção de populações de cebola tipo valenciana para o Vale do São Francisco**. 2015. 74f Dissertação (Mestrado em Agronomia) -Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco. 2015.

OLIVEIRA, A. F.; CARVALHO, D. DE; ROSADO, S. C. S. Taxa de cruzamento e sistema reprodutivo de uma população natural de *Copaifera langsdorffii* Desf. na região de Lavras (MG) por meio de isoenzimas. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 3, p. 331–338, 2002.

OLIVEIRA, V. R. et al. Botânica, melhoramento genético e cultivares de cebola. In: SOUZA, R. J.; ASSIS, R. P.; ARAÚJO, J. C. **Cultura da cebola: tecnologias de produção e comercialização**. Lavras: UFLA, 2015. p. 82–139.

OLIVEIRA, V. R. **Cultivo da cebola (*Allium cepa* L.)**. Série sistemas de cultivo, Embrapa Hortaliças, Brasília-DF, 2003.

OLIVEIRA, V.; MAROUELLI, W.; MADEIRA, N. **Influência de fatores climáticos na produção da cebola**. Nosso Alho, p. 40–45, 2014.

PENHA, J. S. et al. Estimation of natural outcrossing rate and genetic diversity in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L . var . *lunatus*) from Brazil using SSR markers: implications for conservation and breeding. **Genet Resour Crop Evol** (2017), v. 64, p. 1355–1364, 2016.

PIKE, L. M. Onion Breeding. In: BASSETT, M. J. **Breeding Vegetable Crops**. Westport: AVI Publishing Company, 1986. p. 357–394.

POEHLMAN, J. M.; SLEPER, D. **Breeding Field Crops**. 4. ed. United States of America: Wiley, 1995.

QUAIN, M. D. et al. Use of expressed sequence tags-derived simple sequence repeat (SSR) markers for population studies of released and elite sweet potato. **International Journal of Genetics and Molecular Biology**, v. 10, n. 2, p. 14–25, 2018.

QUEIRÓZ, M. A. Os recursos genéticos vegetais e os melhoristas de plantas. In: QUEIROZ, M. A. DE; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido; Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999.

RADHIKA, V. et al. In silico identification and validation of microsatellite markers from onion EST sequences. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 88, n. 5, p. 664–670, 2013.

RAGASSI, C. F. et al. Genotipagem de polimorfismos associados com sistemas de macho-esterilidade em acessos de cebola adaptados ao Brasil. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 3, p. 409-414, 2012.

RAI, N.; RAI, M. **Heterosis breeding in vegetable crops**. New Delhi: New India Publishing, 2006.

RAJESH, M. K. et al. Estimation of out-crossing rates in populations of West Coast Tall cultivar of coconut using microsatellite markers. **Journal of Plantation Crops**, v. 42, n. 3, p. 277–288, 2014.

RAMALHO, M. A. P. et al. **Aplicações de genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. 1. Ed. Lavras: Editora UFLA, 2012

RAVI, D. **Assessment of genetic diversity and outcrossing in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) varieties using ssr markers**. 2014. 109f Dissertação (Master of science in Agriculture) - Acharya N. G. Ranga Agricultural University, Hyderabad, Índia.

RICHARDS, A. J. **Plant breeding systems**. 2. ed. London: Chapman & Hall, p.529, 1997.

RITLAND, K. Systems Using N Independent Loci. **Heredity**, v. 88, p. 221–228, 2002.

SAHAGÚN-CASTELLANOS, J. Sobre el cálculo de la endogamia de variedades sintéticas. **Agrociencia S. Fitociencia**, v. 5, p. 67–68, 1994.

SANTOS, C. A. F et al. **Identificação de tipo de citoplasma em germoplasma de cebola com base em marcadores moleculares**. Embrapa Semiárido-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 2016. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/156117/1/BPD130.pdf>>. Acesso em 12 de Junho de 2018.

SANTOS, C. A. F. et al. A. Identificação dos citoplasmas "S", "T" e "N" via PCR em populações de cebola no Vale do São Francisco. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 308-311, 2008.

SANTOS, C. A. F. et al. Caracterização molecular de cultivares de cebola com marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 1, p. 49-55. 2010a.

SANTOS, C. A. F. et al. Estimativas de polinização cruzada em população de *Spondias tuberosa* Arruda (Anacardiaceae) usando marcador AFLP. **Revista Árvore**, v. 35, n. 3, p. 691–697, 2011.

SANTOS, C. A. F.; LIMA NETO, F. P. Outcrossing rate between “Haden” and “Tommy Atkins” mangoes estimated using microsatellite and AFLP markers. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 46, n. 8, p. 899–904, 2011.

SANTOS, C. A. F.; OLIVEIRA, V. R. Melhoramento genético de cebola no Brasil: avanços e desafios. In: Congresso Brasileiro de Olericultura, 51. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 5726–5743, 2011.

SANTOS, C.A.F et al. Marker-assisted selection of maintainer lines within an onion tropical population. **Sci. agric**, v. 67, n. 2, p. 223-227, 2010b.

SEBBENN, A. M. et al. Mart . Sistema de cruzamento em populações de *Cariniana legalis* Mart. O. Ktze.: implicações para a conservação e o melhoramento genético. **Scientia Forestalis**, v. 58, p. 25–40, 2000.

SHIGYO, M.; KIK, C. Onion. In: PROHENS, J.; NUEZ, F. **Vegetables II – Fabaceae, Liliaceae, Solanaceae and Umbelliferae**. Berlim: Springer Science, 2008. p. 365.

SHULL, G. H. The Composition of a Field of Maize. **Journal of Heredity**, v. 4, n. 1, p. 296–301, 1 jan. 1908.

SILVA, A. C. F da; VIZZOTTO, V. J. O. O sucesso no cultivo da cebola depende do plantio da cultivares na época certa. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 3, n. 1, p. 33-36, 1990.

SIMÓ, J. et al. Spanish onion landraces (*Allium cepa* L.) as sources of germplasm for breeding calçots: A morphological and molecular survey. **Euphytica**, v. 195, n. 2, p. 287–300, 2014.

SINGH, P. **Essentials of Plant Breeding**. 5. ed. New Delhi: Kalyani Publishers, 2014.

SMITH, S. E. **Breeding Synthetic Cultivars**. United States of America: Marcel Dekker, 2004. Disponível em: <https://cals.arizona.edu/research/azalfalf/pdf_pubs/Breeding_Synthetic_Cultivars.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2018.

SOENGAS, P. et al. Molecular evidence of outcrossing rate variability in *Brassica napus*. **Euphytica**, v. 180, n. 3, p. 301–306, 2011.

SONG, S. I.; CHEONG, J. J; CHOI, Y. D. Onion, Garlic and Related Species. In: PUA, E. C.; DAVEY, M. R. **Biotechnology in Agriculture and Forestry: Transgenic Crops IV**. New York: Springer Berlin Heidelberg, 2007. v. 59, p. 415–433.

SOUZA, D. C. L. Técnicas moleculares para caracterização e conservação de plantas medicinais e aromáticas: uma revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 3, p. 495–503, 2015.

SOUZA, L. M. F. I.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Sistema de reprodução em população natural de *Chorisia speciosa* A. St.-Hil. (Bombacaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 1, p. 113–121, 2003.

STELLING, D.; EBMEYER, E.; LINK, W. Yield stability in faba bean, *Vicia faba* L. Effects of heterozygosity and heterogeneity. **Plant Breeding**, v. 112, n. 1, p. 30-39, 1994.

TEIXEIRA, I. D. et al. Variabilidade genética para o período de vernalização em diferentes populações de cebola no Nordeste brasileiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 25, n. 1, 2007.

TOPPA, E. V. B.; JADOSKI, C. J. O Uso dos Marcadores Moleculares no Melhoramento Genético de Plantas. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 12, n. 1, p. 1-5, 2013.

VAN DER MEER, Q. P. VAN BENNEKOM, J. L. Influence of the environment on the percentage of self-fertilisation in onions and some consequences for. **Euphytica**, v. 21, n. 3, p. 450–453, 1972.

VAN DER MEER, Q. P.; VAN BENNEKOM, J. L. Research on pollen distribution in onion seed fields. **Euphytica**, v. 17, n. 2, p. 216–219, 1968.

WANDERLEY, L. J. G. et al. **Melhoramento e produção de sementes de cebola no Nordeste**. Recife: SUDENE / BRASCAN NORDESTE- IPA, 1973.

WANDERLEY, L. J.G; QUEIROZ, M. A; MENEZES, D. Estudos e pesquisas visando solucionar problemas da cebola do São Francisco. In: Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congress. In: Encontro Agronomico Do Medio Sao Francisco, 2, 1976, Juazeiro. **Anais**. Juazeiro: FAMESF, 1978.

WEIR, B. S.; BASTEN, C. J. Sampling Strategies for Distances between DNA Sequences. **Biometrics**, v. 46, n. 3, p. 551–582, 1990.

WELU, G. Development and applications of synthetic varieties in crop improvement. **International Journal of Engineering Development and Research**, v. 4, n. 2, p. 424–429, 2016.

WHEELER, E. J. et al. Molecular systematics of *Allium* subgenus *Amerallium* (Amaryllidaceae) in North America. **American Journal of Botany**, v. 100, n. 4, p. 701–711, abr. 2013.

YOUNG, P. R.; VIVIER, M. A. Genetics and genomic approaches to improve grape quality for winemaking. In: REYNOLDS, A. G. **Managing Wine Quality: Viticulture and Wine Quality**. 1. ed. Canadá: Woodhead Publishing Limited, 2010. p. 316–364.

CAPÍTULO I
TAXA DE POLINIZAÇÃO CRUZADA E HETEROZIGOSIDADE EM POPULAÇÕES
DE CEBOLA TROPICAL

TAXA DE POLINIZAÇÃO CRUZADA E HETEROZIGOSIDADE EM POPULAÇÕES DE CEBOLA TROPICAL

RESUMO

Estimativas da taxa de polinização são importantes para definição de estratégias de conservação genética e programas de melhoramento, sendo essas estimativas ainda limitadas em cebola. O objetivo deste estudo foi estimar taxas de polinização cruzada através de marcadores morfológico e molecular, e heterozigosidade em populações de cebola tropical. Oito populações de cebola foram isoladas em campo, sob polinização aberta (OP) e com a presença de insetos polinizadores. Para a análise morfológica foi utilizado a cor do bulbo como marcador. Populações de bulbo amarelo, foram plantadas em linhas alternadas com populações de bulbo cor vermelha, característica dominante. A taxa de cruzamento foi estimada a partir da frequência de bulbos de cor vermelha na progênie de bulbos amarelos. Quatro loci microssatélites, AMS 03, ACM 004, ACM091 e ACM124, foram utilizados para estimar a taxa de polinização cruzada entre os cruzamentos BRS Alfa São Francisco x Vale Ouro IPA 11, Alfa Resistente ao thrips x BRS Alfa São Francisco, BRS Rio Vale x Botucatu e Cascuda T6 x Botucatu. Para a estimativa da heterozigosidade os dados foram analisados pelo software PowerMarker V3.25. As taxas de cruzamento estimadas com marcador morfológico variaram de 15% a 39%, com média 28,2%, e com loci microssatélites variaram de 33% a 71%, com média de 42,7%, indicando mistura de polinização cruzada e autopolinização dentro de oito populações tropicais de cebola. Os valores médios de heterozigosidade em oito populações, variaram de 0,82 a 1,0, indicando a possibilidade de desenvolver populações de cebola de polinização aberta com maior poder de adaptação as adversidades bióticas e abióticas

Palavras-chave: *Allium cepa*. Microssatélites. Marcador Morfológico. Cruzamento.

CROSS-POLLINATION RATE AND HETEROZYGOSITY IN TROPICAL ONION POPULATIONS

ABSTRACT

Cross-pollination rate estimates are important on formulation of genetic conservation strategies and breeding programs. However, information of such estimates for onion are still limited. The objective of this study was to estimate cross-pollination rates through morphological and molecular markers, and heterozygosity for tropical onion populations. Eight onion populations were isolated in the field, under open pollination (OP) and with the presence of pollinating insects. For morphological analysis the bulb colour was used as marker. Populations of yellow bulb, were planted in alternate rows with populations of red bulb, dominant trait. The crossing rate was estimated from the frequency of red bulbs in the progeny of yellow bulbs. Four molecular microsatellite markers AMS 03, ACM 004, ACM091 and ACM124 were applied to estimate the cross-pollination rate between crosses: BRS Alfa São Francisco x Vale Ouro IPA 11; Alfa resistant to thrips x BRS Alfa São Francisco; BRS Rio Vale x Botucatu and Cascuda T6 x Botucatu. Heterozygosity estimates were obtained using the software PowerMarker V3.25. The crossing rate estimates based on bulb colour ranged from 15% to 39%, with an average of 28.2%, and with SSR loci ranged from 33% to 71%, with an average of 42.7%, indicating a mixture of cross pollination and selfing within eight tropical onion population. The mean values of heterozygosity in eight populations ranged from 0.82 to 1.0, indicating a possibility to develop open-pollinated onion populations with greater adaptation to biotic and abiotic adversities.

Key words: *Allium cepa*. Microsatellites. Morphological marker. Crossing.

INTRODUÇÃO

A cebola (*Allium cepa* L.) é considerada um dos vegetais de maior importância econômica mundial, com produção de 97.862.931 toneladas em 2017 (FAO, 2019; GALMARINI, 2018). A China e a Índia são os maiores produtores com, aproximadamente, 48% da produção mundial de cebola. O Brasil ocupa a décima-segunda posição (FAO, 2019), com uma produção de 1.719.412 toneladas, representando 1,8% da produção mundial e 40% da produção da América do Sul. Na região Nordeste a atividade concentra-se nos estados da Bahia e Pernambuco, que juntos respondem por quase 21% da produção nacional (IBGE, 2018).

O cultivo de cebola no Nordeste brasileiro é realizado predominantemente com cultivares de dia curto (DC), com aproximadamente 12 h de luz para a formação do bulbo e adaptadas às baixas latitudes, sendo assim, denominada de cebola tropical. A cebola é uma planta fisiologicamente de dia longo, com cerca de 16h de luz, característica de regiões de clima temperado (BREWSTER; RABINOWITCH, 1990; CURRAH, 2002; LEE et al, 2013).

A *A. cepa* é conhecida apenas como espécie cultivada e provavelmente tenha se originado na Ásia Central, na região que compreende o Afeganistão, Irã e Turcomenistão (HAVEY, 1995). A cebola é uma espécie herbácea, com ciclo de vida bienal e inflorescências com flores hermafroditas e dicogamia protândrica (OLIVEIRA et al, 2015). A protandria é caracterizada pela liberação do pólen pelas anteras, antes que o estigma esteja receptivo, favorecendo a polinização cruzada (DEVI et al, 2015; MULLER, 1883). Os principais polinizadores da *A. cepa* são as abelhas (*Apis mellífera*) e moscas (*Musca domestica*) (MANFRON; GARCIA e ANDRIOLO, 1992). O sistema floral da *A. cepa* favorece o cruzamento, embora sejam perfeitamente capazes de se autopolinizar (BREWSTER; RABINOWITCH, 1990; BREWSTER, 2008).

A cebola é uma espécie que apresenta diferentes características na coloração, forma e tamanho do bulbo. A alta variabilidade existente nas características morfológicas está relacionada com a alta taxa de polinização cruzada (MOHAPATRA et al, 2017; COSTA; CANDEIA e ARAÚJO, 1999). A polinização cruzada ou aberta (OP) eleva o nível de heterozigosidade, e a recombinação entre alelos favoráveis gera novos genótipos potencialmente adaptados (ALLARD, 1999; MURAYA, 2011). Segundo Facanali et al (2009) a fecundação cruzada, além de possibilitar a manutenção da variabilidade genética também pode elevar o vigor híbrido das

espécies, devido a ocorrência de novas combinações alélicas, codificadoras de caracteres de interesse, como maturação precoce e aumento de produção.

Parte da estrutura genética das populações é determinada pelo sistema de acasalamento, associado aos mecanismos de dispersão do pólen e da semente, sendo importante para o estabelecimento de estratégias que visem a conservação de qualquer espécie (FREITAS et al, 2004; SANTOS; LIMA NETO, 2011). Apesar de sua importância, estudos sobre taxa de polinização em cebola são escassos e limitados. Currah e Ockendon (1983); Van Der Meer e Van Bennekom (1968,1972) estimaram a taxa de cruzamento entre variedades de cebola com bulbo de cor amarela” e de cor “vermelha”, utilizando a coloração do bulbo como marcador genético. Para Santos et al (2012) a confirmação de cruzamentos em populações de polinização cruzada pode ser baseada considerando caracteres morfológicos, bem como marcadores de DNA.

Os microssatélites (SSR) chamados ‘simple sequence repeat’ têm sido empregado com sucesso para estimar as taxas de cruzamento em *Mangifera indica* (SANTOS; LIMA NETO, 2011), *Cocos nucifera* (RAJESH et al, 2014), *Sesamum indicum* (GEBREMICHAEL, 2017) e *Passiflora alata* (FERREIRA et al, 2010). No entanto, estudos sobre a estimativa da taxa de cruzamento em cebola usando marcador molecular são escassos. Sendo mais comum na literatura a utilização de marcador morfológico.

Segundo Currah (2002) as populações de polinização cruzada apresentam alta heteroziguidade. De acordo com Jayaswall et al (2019) os SSRs, podem ser aplicados na estimativa da heteroziguidade. Para Weir (1996), heteroziguidade é uma medida da variação genética de uma população, sendo estimada a partir do número de indivíduos heterozigotos presentes em uma população e da heteroziguidade do marcador genético (BUTLER, 2015). Segundo Currah e Proctor (1990) altos níveis de heteroziguidade dentro das populações de cebolas favorecem maior vigor e, portanto, maior rendimento em populações de polinização aberta.

Estimativas de heteroziguidade em cebola utilizando SSR foram realizadas por Karić et al (2018), Abdou et al (2016) e Simó et al (2013), reportando valores de 0,40, 0,45 e 0,50 respectivamente. Simó et al (2013) reportaram esses valores ao fato das populações compartilharem grande parte do mesmo background genético. Em cebola tropical a estimativa da heteroziguidade foi reportada por Jayaswall et al (2019) e Santos et al (2010), com valores de 0,57 e 0,58, respectivamente.

Os objetivos do presente estudo foram estimar a taxa de polinização cruzada e heterozigosidade usando marcador morfológico e/ou microssatélites em populações de cebola tropical.

MATERIAL E MÉTODOS

Materiais Vegetais

Foram utilizados sementes de onze genótipos parentais de cebola (Tabela 3) do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa-Semiárido, Petrolina, PE- Brasil. Os experimentos foram realizados em áreas do Campo Experimental de Bebedouro, pertencente à Embrapa Semiárido, localizado em Petrolina-PE. Para os cruzamentos adotaram-se ruas alternadas dos parentais. O espaçamento adotado foi de 1,0 m x 0,5 m, com um bulbo/cova (SANTOS; MENEZES e ARAÚJO, 1995). Cada cruzamento foi isolado, considerando-se distância mínima de 600 m, para evitar contaminações. Durante o experimento não foi realizada nenhuma pulverização com inseticidas, para garantir a presença de agentes polinizadores. As sementes produzidas nas plantas do parental feminino foram armazenadas, separadamente, em câmara fria para o estabelecimento de progênes individuais.

Tabela 3. Identificação (Id) e cor dos bulbos dos genótipos usados para formação de populações de cebola.

Genótipos	Cor do Bulbo
BRS Alfa São Francisco	Amarelo
Vale Ouro IPA 11	Amarelo
Alfa SF Resistente ao Thrips (RT)	Amarelo
BRS Carrancas	Roxo
BRS Rio Vale	Amarelo
Botucatu	Amarelo
Cascuda T6	Amarelo
Cascuda T7	Amarelo
IPA 10	Roxo
IPA 11	Amarelo
BRS Alfa São Francisco	Amarelo

Para a geração e avaliação de progênes (F1) foram utilizadas as sementes dos progenitores femininos. Foram semeadas até 3,5 g de sementes em bandejas de poliestireno contendo substrato preto, até atingirem o estágio adequado para o transplante. As bandejas foram colocadas em casa de vegetação, sendo irrigadas diariamente por microaspersão. Após 35 dias foram transplantadas para canteiros

com dimensões de 1,5 m de largura com distância entre linhas de 0,12 m e 0,08 m entre plantas. O manejo de irrigação e tratos culturais foram os mesmos adotados para produção de cebola na região (FERREIRA et al, 2017).

Extração, Purificação e Quantificação de DNA

Foram coletadas folhas jovens dos parentais durante o período de crescimento para produção de sementes, e das progênes durante o crescimento para produção dos bulbos. As folhas foram preservadas em freezer a -80 °C até a extração e análise do DNA no Laboratório de Genética da Embrapa Semiárido.

O DNA total foi extraído das progênes e de amostras foliares de sete plantas, para constituir um 'bulk' de cada parental (Tabela 3), no período de 30-40 dias após a semeadura. O protocolo para extração do DNA foi o CTAB 2x (DOYLE; DOYLE, 1990), modificado para 10.500 e 12.500 rpm na primeira e na segunda centrifugação, respectivamente; beta-mercaptoetanol a 2%, incubação a 60 °C durante 30 min para todas as amostras. A concentração do DNA extraído de cada amostra foi determinada através de leituras diretas no equipamento Multiskan Spectrophotometer (Thermo Scientific) em razões de absorbância de 260/280 nm. A qualidade do DNA foi verificada em gel de agarose 0,8%, seguido da diluição do DNA genômico para 30 ng μL^{-1} .



Figura 2. Identificação de planta híbrida pela presença do alelo para bulbo vermelho em progênie de BRS Rio Vale x BRS Carrancas.

Análise morfológica e molecular com loci SSRs

Para a confirmação do cruzamento entre plantas, utilizou-se como marcador genético a coloração do bulbo (Figura 2). A cor roxa é controlada por um alelo dominante, e o amarelo por alelos recessivos (CLARKE; JONES e LITTLE, 1944),

sendo possível a fácil identificação de plantas híbridas dentro da progênie de bulbo amarelo.

Para detectar loci polimórficos foi feito um screening nos parentais, usando 50 marcadores SSRs: 30 publicados por Fischer e Bachmann (2000), e 20 por Jakse et al (2005). Dos 50 iniciadores SSRs, oito apresentaram polimorfismos, selecionando-se quatro (Tabela 4). Dos quatro, três apresentaram configuração necessária para identificar o alelo paterno nas progênes, de modo a tornar possível a identificação do cruzamento, e um, o AMS 03 apresentou a situação ideal de homozigose em um parental e alelos em heterozigose na progênie.

Tabela 4. Loci SSRs selecionados para avaliação de hibridismo em quatro populações de cebola.

SSR	Sequência do locus
AMS 03 ^a	TAACCCTAGGATGAGTTGAG/ GGATTCCTCTTGAGATGA
ACM 004 ^b	TCGTTCTTTAGAACACGTTAGGAA/ TGTCGGCGGATATAGTGACA
ACM 006 ^b	GCAGTTCTCCCTTTGTAAAATCA/ GTGATGGATGAGTGGATGGA
ACM 091 ^b	TCTCCTCCTCTAACCAGCCA/ GGTGCTCCAGTTGAGCTTTC

^a Microssatélites desenvolvidos por Fischer e Bachmann (2000); ^b Microssatélites desenvolvidos por Jakse et al (2005).

A reação de PCR descrita por Fischer e Bachmann (2000), foi realizada para um volume final de 20 µL, que continha 30 ng de DNA genômico, 1x de tampão para PCR; 2.0 mM de MgCl₂; 0,22 mM de cada dNTP; 0,53 µM de cada iniciador; 0,4 unidades da enzima Taq DNA Polimerase. A programação do termociclador para as amplificações consistiu de desnaturação inicial a 94 °C por 2 min, 94° por 40s, 58 °C por 45s, 72 °C por 60s, seguido de 34 ciclos, e uma etapa de extensão final a 72 °C por 5 min. A reação de amplificação de PCR descrita por Jakse et al (2005) foi realizada para um volume final de 15 µL, que continha 30 ng de DNA genômico, 1x de tampão para PCR; 2 mM de MgCl₂; 0,2 mM de cada dNTP; 0,4 µM de cada iniciador; 0,4 unidades da enzima Taq DNA Polimerase. A programação do PCR foi: desnaturação inicial a 95 °C por 4 min, 95° por 30s, 58 °C por 45s, 72 °C por 60s, seguido de 28 ciclos, e uma etapa de extensão final a 72 °C por 8 min.

Após a amplificação as reações de PCR foram aquecidas durante 3 min a 94 °C na presença de tampão desnaturante formamida, e em seguida foram colocadas imediatamente no gelo antes da aplicação no gel de poliacrilamida. Os géis foram corados com nitrato de prata conforme Creste; Tulmann Neto e Figueira (2001).

Plantas híbridas nas populações BRS Alfa São Francisco x Vale Ouro IPA 11, Alfa RT x BRS Alfa São Francisco, BRS Rio Vale x Botucatu e Cascuda T6 x Botucatu foram confirmadas mediante a presença de fragmentos de DNA tendo como origem alelos do progenitor masculino (KYALIGONZA et al, 2014).

Análises estatísticas

A determinação do percentual da taxa de cruzamento foi baseada no método descrito por Jain (1979), e Kumar e Patra (2010): relação do número de heterozigotos (a) sobre o número de indivíduos heterozigotos(a) mais o número de homozigoto recessivo (b). A fórmula expressa é $T (\%) = (a / a+b)*100$.

Os loci AMS 03, ACM 004 e 006 foram usados para analisar progênies de BRS Rio Vale x Botucatu, enquanto o locus ACM 004 na população BRS Alfa São Francisco x Vale Ouro IPA 11, o locus ACM 006 na população Cascuda T6 x Botucatu e o locus ACM 091 na população Alfa RT x BRS Alfa São Francisco. As plantas híbridas foram identificadas quando identificado a presença do alelo de origem do progenitor masculino, como discutido por Nadeem et al (2014).

A heterozigosidade foi estimada como descrito por Weir (1996): a heterozigosidade representa a frequência de heterozigotos observados em uma população ou amostra em todos os loci analisados, calculada sobre todos os loci. Para essa análise foi utilizado o software PowerMarker (LIU; MUSE, 2005).

RESULTADOS

Taxa de polinização cruzada com base na cor do bulbo

Quatro cruzamentos tiveram seus híbridos identificados por contagem direta de bulbos de cor vermelha entre bulbos de cor amarela originários da planta materna de bulbo amarelo. Foram identificadas 40, 155, 38 e 44 plantas de bulbos vermelhos nos cruzamentos BRS Rio Vale x BRS Carrancas, Botucatu x BRS Carrancas, IPA 11 x IPA 10 e BRS Alfa São Francisco x IPA 10, respectivamente, resultando nas estimativas de polinização cruzada de 15%, 39%, 37% e 22% (Tabela 5), com média de 28,25% nos cruzamentos de polinização aberta avaliados. As maiores taxas foram observadas entre os cruzamentos de Botucatu x BRS Carrancas e de IPA 11 x IPA 10, 39% e 37%, respectivamente.

Tabela 5. Estimativa de taxa de polinização cruzada em populações de cebola com base em locus SSR e cor do bulbo.

Marcador	Cruzamento	Loci	NTI	NH	Polinização (%)
SSR	BRS Alfa São Francisco x IPA 11	04 ^b	54	22	40
SSR	Alfa RT x Alfa São Francisco	091 ^b	55	18	33
SSR	BRS Rio Vale x Botucatu	03 ^a , 04 ^b , 06 ^b	55	39	71
SSR	Cascuda T6 x Botucatu	06 ^b	52	14	27
Cor do bulbo	BRS Rio Vale x BRS Carrancas	-	267	40	15
Cor do bulbo	Botucatu x BRS Carrancas	-	399	155	39
Cor do bulbo	IPA 11 x IPA 10	-	101	38	37
Cor do bulbo	BRS Alfa S. Francisco x IPA10	-	199	44	22

^a Microsatélites desenvolvidos por Fischer e Bachmann (2000); ^b Microsatélites desenvolvidos por Jakse et al (2005). NTI- Número Total de Indivíduos, NTH- Número de Híbridos.

Taxa de polinização cruzada com base na análise de loci microsatélites

Plantas híbridas foram identificadas nos quatro cruzamentos pela presença do alelo proveniente do progenitor masculino (Figuras 3 e 4). Foram identificadas 22, 18, 39 e 14 plantas híbridas nos cruzamentos BRS Alfa São Francisco x Vale Ouro IPA 11, Alfa Resistente ao thrips (RT) x BRS Alfa São Francisco, BRS Rio Vale x Botucatu e Cascuda T6 x Botucatu, respectivamente, resultando nas estimativas de polinização cruzada de 40%, 33%, 71% e 27% (Tabela 5), e média de 42,75% nos cruzamentos de polinização aberta avaliados.

A maior taxa de polinização cruzada foi observada na população BRS Rio Vale x Botucatu, avaliada com três loci microsatélites, desses apenas o AMS 03 apresentou a situação ideal de homozigose em um parental e alelos em heterozigose na progênie, as demais populações foram avaliadas por apenas um locus SSR (Tabela 5).

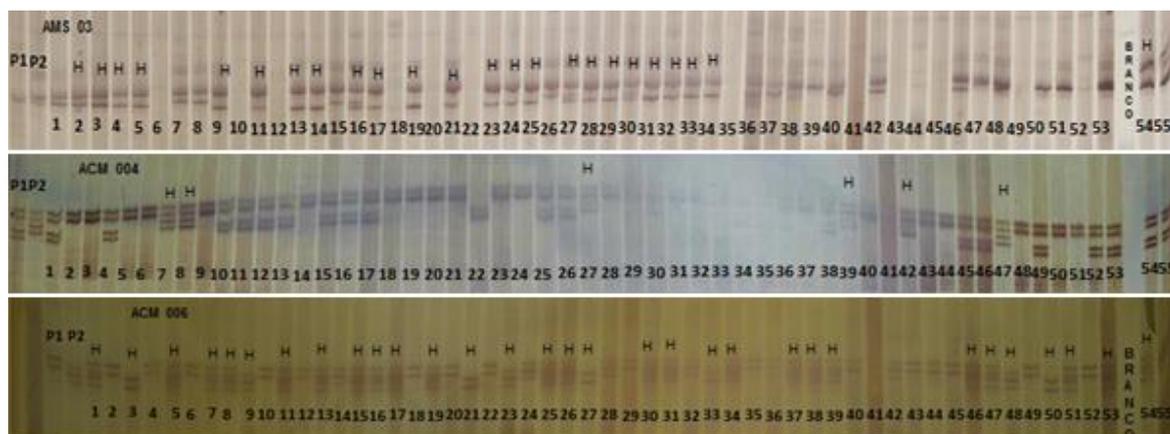


Figura 3. O padrão alélico dos loci AMS 03, ACM 004 e ACM 006 na BRS Rio Vale, Botucatu e 55 progênies BRS Rio Vale (P1) x Botucatu (P2). H=planta híbrida, P1= progenitor feminino, P2= progenitor masculino. O branco foi utilizado como teste de pureza.

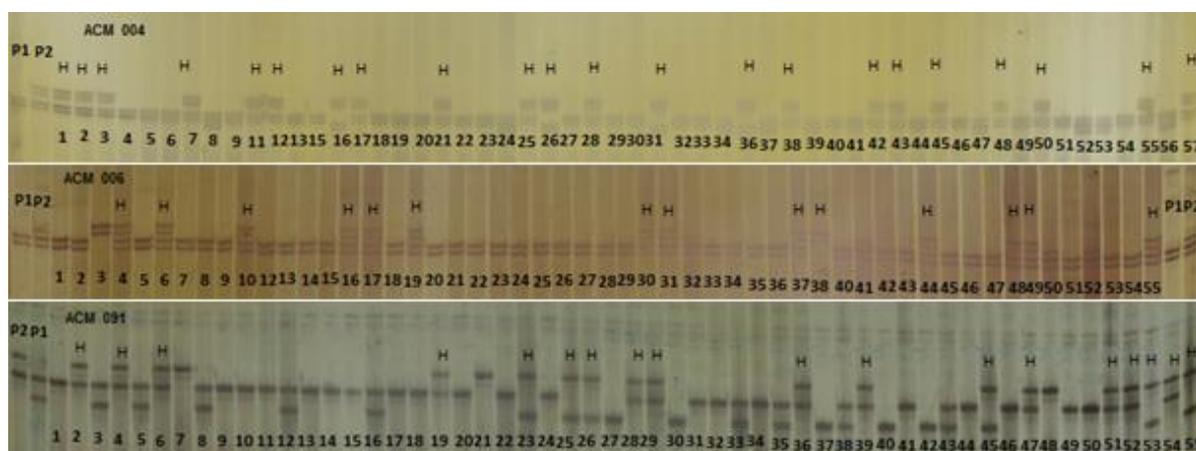


Figura 4. O padrão alélico dos loci ACM 004, ACM 006 e ACM 091 na BRS Alfa São Francisco (P1) x Vale Ouro IPA 11 (P2), Cascuda T6 (P1) x Botucatu (P2) e Alfa RT (P1) x BRS Alfa São Francisco (P2) e 54, 53 e 55 progênies F1, respectivamente. Sendo, P1= progenitor feminino, P2= progenitor masculino e H= planta híbrida.

Estimativas de heterozigosidade em loci microssatélites, populações e progênies de cebola

Dos 50 pares de iniciadores SSR utilizados no screening de oito parentais, 28 apresentaram ‘amplicons’ de fácil identificação. Desses 28, dez pares SSRs (35,7%) foram monomórficos, e 18 (64,3%) apresentaram polimorfismo nos parentais (Tabela 6). O valor médio da heterozigosidade (H) dos 28 loci SSRs foi de 0,87. Os valores variaram de 0,37 a 1,0, sendo que os menores valores de H, 0,37, foram observados nos loci ACM 138 e ACM 152. Os loci ACM 169, ACM 078, ACM 134, ACM 045, AMS 03 e ACM 068 apresentaram $H < 1$, respectivamente. Os demais loci apresentaram

H=1 (Tabela 6). As oito populações de cebola apresentaram alta heteroziguidade variando de 0,82 a 1,0, sendo que as maiores heteroziguidades foram observadas na BRS Alfa São Francisco e Alfa RT e a menor na cascuda T7 (Tabela 6).

Foram observadas completa heteroziguidade nas progênies dos cruzamentos entre BRS Alfa São Francisco x Vale Ouro IPA 11, BRS Rio Vale x Botucatu e Cascuda T6 x Botucatu, enquanto as progênies do cruzamento Alfa Resistente ao thrips x BRS Alfa São Francisco apresentou heteroziguidade de 0,50 (Tabela 7).

Tabela 6. Padrão alélico e heteroziguidade em loci (HL) e populações (HP) de cebola tropical, tendo como referência 28 marcadores SSR.

SSRs	BRS Alfa São Francisco	IPA 11	Alfa RT	BRS Rio Vale	BRS Carrancas	Botucatu	Cascuda T'6	Cascuda T7	HL
AMS 03	537/524	524/487	524/487	524/524	524/524	537/524	537/524	537/524	0,75
AMS 04	544/530	544/530	544/530	544/530	544/530	544/530	544/530	544/530	1,0
AMS 08	460/450	460/450	460/450	460/450	460/450	460/450	460/450	460/450	1,0
AMS 10	231/223	231/223	231/223	231/223	231/223	231/223	231/223	231/223	1,0
AMS 12	737/707	737/707	737/707	737/707	737/707	737/707	737/707	737/707	1,0
AMS 14	364/349	364/349	364/349	364/349	364/349	364/349	364/349	364/349	1,0
AMS 17	507/495	507/495	507/495	507/495	507/495	507/495	507/495	507/495	1,0
AMS 20	611/597	611/597	611/597	611/597	611/597	611/597	611/597	611/597	1,0
AMS 21	611/597	611/597	611/597	611/597	611/597	611/597	611/597	611/597	1,0
AMS 22	358/350	358/350	358/350	358/350	358/350	358/350	358/350	358/350	1,0
ACM 04	606/589	651/632	606/589	632/589	606/589	632/606	632/606	632/606	1,0
ACM 006	539/525	576/553	539/525	576/553	576/553	553/539	539/525	539/525	1,0
ACM 024	286/273	273/261	273/261	286/273	273/261	286/273	286/273	286/273	1,0
ACM 045	797/772	797/772	797/772	797/772	797/772	797/797	797/797	797/797	0,62
ACM 068	916/883	916/883	916/883	916/883	883/883	916/883	916/883	916/883	0,87
ACM 071	328/321	328/321	328/321	335/328	335/328	328/321	328/321	328/321	1,0
ACM 078	952/952	952/952	952/952	952/899	952/952	952/899	952/899	952/899	0,50
ACM 091	433/412	433/412	412/394	433/412	412/394	433/412	433/412	433/412	1,0
ACM 101	586/570	586/570	586/570	570/563	570/563	570/563	570/563	570/563	1,0
ACM 102	314/311	314/311	314/311	314/311	314/311	314/311	314/311	314/311	1,0
ACM 119	648/639	695/685	648/639	648/639	648/639	648/639	648/639	648/639	1,0
ACM 124	555/541	555/541	555/541	555/541	555/541	555/541	555/541	555/541	1,0
ACM 132	506/485	506/485	506/485	506/485	527/485	506/485	506/485	506/485	1,0
ACM 134	390/384	422/384	405/384	405/384	422/415	405/405	405/405	405/405	0,62
ACM 138	616/543	543/543	568/543	543/543	568/543	543/543	543/543	543/543	0,37
ACM 152	596/577	577/577	596/577	596/577	577/577	577/577	577/577	577/577	0,37
ACM 169	692/671	692/692	692/671	739/692	739/739	692/692	739/692	692/692	0,50
ACM 187	547/532	547/532	547/532	547/532	547/532	547/532	547/532	547/532	1,0
HP	0,96	0,86	0,96	0,93	0,82	0,82	0,86	0,82	0,87 0,88

Tabela 7. Heterozigosidade (H) em quatro populações de cebola com base em loci SSRs

População	Locus SSR	H
BRS Alfa São Francisco x Vale Ouro IPA 11	AMS 03	1,00
Alfa RT x BRS Alfa São Francisco	ACM 004	0,50
Cascuda T6 x Botucatu	ACM 006	1,00
BRS Rio Vale x Botucatu	AMS 03	0,93
BRS Rio Vale x Botucatu	ACM 004	1,00
BRS Rio Vale x Botucatu	ACM006	1,00

DISCUSSÃO

Os valores encontrados para as oito populações avaliadas com marcadores morfológicos e loci de SSRs variaram de 15 a 39%, e de 27 a 71%, respectivamente. Esses valores estão próximos dos valores reportados por Currah e Ockendon (1983), e Van Der Meer e Van Bennekom (1972), que reportaram valores variando de 23 a 56% e de 29 a 56%, em experimentos conduzidos em campo aberto na Holanda, tendo a cor do bulbo vermelho como marcador fenotípico na população de cebola de bulbo amarelo Rijnsburger. De acordo com Currah e Ockendon (1978), as baixas taxas de polinização cruzada podem estar associadas à falta de sincronia no período de floração das plantas ou mesmo ausência em abundância dos insetos polinizadores

As médias das estimativas com loci de SSRs, 42,7%, foram superiores as medias com marcador fenotípico para cor do bulbo, 28,2%. As médias com as estimativas com loci de SSRs foram impactadas pela alta taxa de polinização estimada na população BRS Rio Vale x Botucatu, avaliada com três loci de SSRs. Para Allard (1999) e Brown; Barrett e Moran (1985), estimativas multilocus são mais precisas do que estimativas obtidas com único marcador molecular ou isoenzimático.

Deve ser ressaltado de que antes da aplicação dos marcadores isoenzimáticos para estimativas de taxas de cruzamentos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998), os estudos eram realizados com marcadores fenotípicos, como cor da flor, cor do bulbo, cor do talo, entre outros, todos de herança simples ou unilocus. Santos; Menezes e Araujo (1995); Teófilo; Mamede e Sombra (1999) reportaram taxa de polinização unilocus para guandu e feijão-caupi, respectivamente, aplicando marcador fenotípico em homozigose. No presente estudo os parentais utilizados eram homozigotos para o locus cor do bulbo, pois não foram identificados bulbos de diferentes cores em multiplicação de sementes.

Allium cepa é conhecida como uma espécie de polinização cruzada (JO et al, 2017), no entanto a mesma apresenta também flores hermafroditas e masculinas em uma mesma inflorescência. Segundo Currah (1990) as anteras de flores individuais amadurecem e perdem seu pólen antes que os estigmas sejam totalmente receptivos, fenômeno conhecido protandria. No entanto, para Brewster (2008), estas plantas são perfeitamente capazes de se autopolinizarem. Dessa forma pode-se deduzir que as baixas taxas estimadas no presente estudo estão de acordo com as características florais da espécie, que de certa forma favorece a autopolinização. Ainda, segundo Witter e Blochtein (2003) a deficiência de polinização tem sido apontada como uma das causas da baixa produção de sementes na cultura da cebola.

O baixo número de microssatélites usados na estimativa da polinização cruzada para este trabalho está associado a baixa diversidade alélica dos parentais (Tabela 6) e na ausência da condição ideal e necessária, como parentais homozigotos em recessividade e dominância ou mesmo na situação de retrocruzamento: homozigoto na população materna e heterozigoto na paterna. Santos e Lima Neto (2011), adotaram essa estratégia de condição necessária para estimarem a taxa de polinização cruzada em mangueira.

A heterozigosidade das progênies foi alta, variando de 0,93 a 1,0, exceto para progênies do cruzamento Alfa Resistente ao thrips x BRS Alfa São Francisco, de 0,50. Os parentais das progênies BRS Alfa São Francisco x IPA 11, Cascuda T6 x Botucatu e BRS Rio Vale x Botucatu são de diferentes origens e programas de melhoramento, explicando a alta heterozigosidade. Alfa Resistente ao thrips foi originária de seleção recorrente da BRS Alfa São Francisco (ALENCAR; SANTOS e YURI, 2011), que pode explicar a baixa heterozigosidade do cruzamento Alfa Resistente ao thrips x BRS Alfa São Francisco, de 0,50. Valores reportados por Simó et al (2013), sugerem que o valor de heterozigosidade em torno de 50% ocorre em populações predominantemente alógama.

Simó et al (2013) reportaram heterozigosidade variando de 0,15 a 0,66 em populações de cebola espanhola, valores esses inferiores aos estimados no presente estudo. Ainda segundo Simó et al (2013), alta heterozigosidade pode ser explorada no desenvolvimento de híbridos, explorando o vigor de heterose. Outro impacto da alta heterozigosidade é no desenvolvimento de populações de polinização aberta (OP), pois a presença da alta frequência de heterozigotos intra populacional pode

funcionar como tamponamento as adversidades bióticas e abióticas, conferindo maior poder de adaptação as OPs.

Estimativas da taxa de polinização cruzada e de heterozigosidade, com base na contagem direta de alelos de locus SSR, é apresentada de forma inédita em quatro populações de cebola tropical. Essas informações serão importantes para orientar estudos de melhoramento de cebola, como o desenvolvimento de híbridos, variedades sintéticas e OPs dessa importante hortaliça para o nordeste brasileiro.

CONCLUSÕES

- As estimativas das taxas de polinização cruzada com base no marcador fenotípico cor do bulbo variou de 15% a 39%, com média 28,2%, enquanto as estimativas com loci SSRs variaram de 33% a 71%, com média de 42,7%, indicando mistura de polinização cruzada e autopolinização dentro de oito populações tropicais de cebola;
- As estimativas das heterozigosidades em oito populações de cebola variaram 0,82 a 1,0, sugerindo o desenvolvimento de populações de polinização aberta (OP) com grande potencial produtivo.
- Os loci SSRs AMS 03, ACM 004, ACM 006 e ACM091 são indicados para identificação de híbridos resultantes de polinização natural ou artificial nos cruzamentos BRS Alfa São Francisco x Vale Ouro IPA 11, Alfa Resistente ao Thrips x BRS Alfa São Francisco, BRS Rio Vale x Botucatu e Cascuda T6 x Botucatu.

REFERÊNCIAS

- ABDOU, R. et al. Genetic diversity of Niger onions (*Allium cepa* L.) assessed by simple sequence repeat markers (SSR). **Acta Horticulturae**, v. 1143, p. 77–90, 2016.
- ALENCAR, J. A.; SANTOS, C. A. F.; YURI, J. E. Avaliação de ciclos de seleções recorrentes na cultivar de cebola BRS Alfa São Francisco para tolerância a tripses. **Congresso Brasileiro de Olericultura**, Anais, v. 51, p. 473–479, 2011.
- ALLARD, R. Reproductive Systems and Breeding Plants. In: **Principles of Plant Breeding**. 2.ed. United States of America: John Wiley & Sons, 1999. p. 157–174.
- BREWSTER, J. L. **Onions and Other Vegetable Alliums**. 2. ed. London: CABI, 2008.
- BREWSTER, J. L.; RABINOWITCH, D. **Onions Allied Crops**. 1. ed. New York: CRC Press Taylor & Francis Group, 1990.
- BROWN, A. H.; BARRETT, S. C.; MORAN, G. F. Mating system estimation in forest trees: models, methods and meanings. In: GREGORIUS, H.-R. (Ed.). **Population Genetics in Forestry**. Berlin: Springer Verlag, 1985. p. 295.
- BUTLER, J. M. **Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Interpretation**. United States of America: Elsevier, 2015.
- CLARKE, A. E.; JONES, H. A.; LITTLE, T. M. Inheritance of Bulb Color in the Onion. **Genetics**, v. 29, n. 6, p. 569–575, 1944.
- COSTA, N. D.; CANDEIA, J. A.; ARAÚJO, M. T. Importância econômica e melhoramento genético da cebola no Nordeste do Brasil. In: QUEIROZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semiárido; Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia: EMBRAPA, 1999.
- CRESTE, S.; TULMANN, NETO, A.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 19, n. 4, p. 299–306, 2001.
- CURRAH, L. Onions in the tropics: cultivars and country reports. In: RABINOWITCH, H. D.; CURRAH, L. **Allium crop science: recent advances**. London: CABI, 2002. p. 540.
- CURRAH, L. Pollination Biology. In: BREWSTER, J. L.; RABINOWITCH, H. D. (Eds.). **Onions Allied Crops**. 1. ed. New York: CRC Press Taylor & Francis Group, 1990. p. 135–149.
- CURRAH, L.; OCKENDON, D. J. Onion pollination by blowflies and honeybees in large cages. **Annals of applied biology**, v. 103, n. 3, p. 497–506, 1983.
- CURRAH, L.; OCKENDON, D. J. Protandry and the sequence of flower opening in the onion (*Allium cepa* L.). **New Phytologist**, v. 81, p. 419–428, 1978.

CURRAH, L.; PROCTOR, F. J. Onions in tropical regions. **Natural Resources Institute**, n. 35, p. 232, 1990.

DEVI, S. et al. The pollination biology of onion (*Allium cepa* L.)- a review. **Agricultural Reviews**, v. 36, n. 1, p. 1, 2015.

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

FACANALI, R. et al. M. Biologia reprodutiva de populações de *Ocimum selloi* Benth. **Rev. Bras. Pl. Med**, v. 11, n. 2, p. 141–146, 2009.

FAO. **Food Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>>. Acesso em: 26 jan. 2019.

FERREIRA, G. O. et al. Evaluation of onion accessions for resistance to thrips in Brazilian semi-arid regions. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 92, n. 5, p. 550–558, 2017.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília, DF: EMBRAPA CENARGEN, 1998.

FERREIRA, T. G. et al. Outcrossing rate in sweet passion fruit based on molecular markers. **Plant Breeding**, v. 129, n. 6, p. 727–730, 2010.

FISCHER, D.; BACHMANN, K. Onion microsatellites for germplasm analysis and their use in assessing intra- and interspecific relatedness within the subgenus Rhizirideum. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 101, n. 1–2, p. 153–164, 2000.

FREITAS, M. L. et al. Mating system of a population of *Myracrodruon urundeuva* F.F. & M.F. Allemão using the AFLP molecular marker. **Gen. Molecular Biology**, v. 27, n. 3, p. 425–431, 2004.

GALMARINI, C. R. Economic and academic importance. In: MASAYOSHI, S.; KHAR, A.; ABDELRAHMAN, M. **The Allium Genomes**. Switzerland: Springer, 2018. p. 1-9.

GEBREMICHAEL, D. E. Estimation of outcrossing rate in Ethiopian sesame (*Sesamum indicum* L.) using ssr markers. **Novelty Journals**, v. 4, n. 1, p. 19–27, 2017.

HAVEY, M. J. Onions and other cultivated alliums. **Evolution of crop plants**, p. 344–350, 1995.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_%5Bmensal%5D/Fasciculo_Indicadores_IBGE/estProdAgri_201808.pdf>. Acesso em: 01 Novembro. 2018.

JAIN, S. K. Estimation of outcrossing rates: some alternative procedures. **Crop Science**, v. 19, p. 23–26, 1979.

JAKSE, J. et al. Single nucleotide polymorphisms, indels, and simple sequence repeats for onion cultivar identification. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 130, n. 6, p. 912–917, 2005.

JAYASWALL, K. et al. Characterization of *Allium* germplasms for conservation and sustainable management using SSR markers. **Indian Journal of Traditional Knowledge**, v. 18, n. 1, p. 193–199, 2019.

JO, J. et al. Development of a genetic map for onion (*Allium cepa* L.) using reference-free genotyping-by-sequencing and SNP assays. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 1–8, 2017.

KARIĆ, L. et al. Genetic diversity assessment of *Allium cepa* L. Cultivars from Bosnia and Herzegovina using SSR markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 17, n. 1, 2018.

KUMAR, B.; PATRA, N. K. Gene frequency-based estimation of natural outcrossing in opium poppy (*Papaver somniferum* L.). **Molecular Breeding**, v. 26, n. 4, p. 619–626, 2010.

KYALIGONZA, V. et al. Identification of F1 Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) progeny using microsatellite markers and capillary electrophoresis. **American Journal of Plant Sciences**, v. 05, n. 01, p. 119–125, 2014.

LEE, R. et al. Flowering locus T genes control onion bulb formation and flowering. **Nature Communications**, v. 4, p. 1–9, 2013.

LIU, K.; MUSE, S. V. PowerMaker: An integrated analysis environment for genetic maker analysis. **Bioinformatics**, v. 21, n. 9, p. 2128–2129, 2005.

MANFRON, P. A.; GARCIA, D. C.; ANDRIOLO, J. L. Aspectos morfo-fisiológicos da cebola. **Ciência Rural**, v. 22, p. 1–8, 1992.

MOHAPATRA, P. P. et al. Genetic variability, heritability and genetic advance studies in onion (*Allium cepa* L.). **Journal of Crop and Weed**, v. 13, n. 3, p. 32–34, 10 jan. 2017.

MULLER, H. **The Fertilisation of Flowers**. In: MULLER, H. (Ed.). MACMILLAN AND CO. London: Macmillan And CO, 1883. p. 673.

MURAYA, M. M. et al. Wild sorghum from different eco-geographic regions of Kenya display a mixed mating system. **Theor Appl Genet**, v. 122, p. 1631–1639, 2011.

NADEEM, M. et al. Hybrid identification, morphological evaluation and genetic diversity analysis of *rosa* × *hybrida* by ssr markers. **Australian Journal of Crop Science**, v. 8, n. 2, p. 183–190, 2014.

OLIVEIRA, V. R. et al. Botânica, melhoramento genético e cultivares de cebola. In: SOUZA, R. J.; ASSIS, R. P.; ARAÚJO, J. C. (Ed.). **Cultura da cebola: tecnologias de produção e comercialização**. Lavras: UFLA, 2015. p. 82–139.

RAJESH, M. K. et al. Estimation of out-crossing rates in populations of west coast tall cultivar of coconut using microsatellite markers. **Journal of Plantation Crops**, v. 42, n. 3, p. 277–288, 2014.

SANTOS, C. A. F. et al. Caracterização molecular de cultivares de cebola com marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 1, p. 49–55, 2010.

SANTOS, C. A. F.; LIMA NETO, F. P. Outcrossing rate between “Haden” and “Tommy Atkins” mangoes estimated using microsatellite and AFLP markers. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 8, p. 899–904, 2011.

SANTOS, C. A. F.; MENEZES, E. A.; ARAUJO, F. Hibridação natural em Guandu no sertão Pernambucano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 9, p. 1183–1187, 1995.

SANTOS, E. A. et al. Confirmation and characterization of interspecific hybrids of *Passiflora* L. (Passifloraceae) for ornamental use. **Euphytica**, v. 184, p. 389–399, 2012.

SIMÓ, J. et al. Spanish onion landraces (*Allium cepa* L.) as sources of germplasm for breeding calçots: A morphological and molecular survey. **Euphytica**, v. 195, n. 2, p. 287–300, 2013.

TEÓFILO, E. M.; MAMEDE, F. B. F.; SOMBRA, N. S. Hibridação natural em feijão Caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp - Fabaceae). **Ciênc. e agrotec**, v. 23, n. 4, p. 1010–1011, 1999.

VAN DER MEER, Q. P. VAN BENNEKOM, J. L. Influence of the environment on the percentage of self-fertilisation in onions and some consequences for. **Euphytica**, v. 21, p. 450–453, 1972.

VAN DER MEER, Q. P.; VAN BENNEKOM, J. L. Research on pollen distribution in onion seed fields. **Euphytica**, v. 17, n. 2, p. 216–219, 1968.

WEIR, B. S. **Genetic Data Analysis. Methods for Discrete Population Genetic Data**. 2. ed. Canadá: Sinauer Associates, 1996.

WITTER, S.; BLOCHTEIN, B. Efeito da polinização por abelhas e outros insetos na produção de sementes de cebola. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 12, p. 1399–1407, 2003.

CAPÍTULO II
AVALIAÇÃO DE VARIEDADES SINTÉTICAS SYN-0 E DE POPULAÇÕES DE
CEBOLA TROPICAL

AVALIAÇÃO DE VARIEDADES SINTÉTICAS SYN-0 E DE POPULAÇÕES DE CEBOLA TROPICAL

RESUMO

Variedades sintéticas (VS) podem ser uma alternativa ao desenvolvimento de híbridos de cebola, devido as limitações tecnológicas ou socio econômicas. Os objetivos do presente estudo foram desenvolver e estimar a heterose em VS Syn 0 de cebola tropical como alternativa ao desenvolvimento de híbridos no nordeste brasileiro. Seis VS, oito populações de polinização aberta e um híbrido comercial foram avaliados em delineamento experimental de blocos casualizados, com tres repetições, em duas diferentes épocas. Foram avaliados a produção total (PTB) e comercial de bulbos (PBC) e o ciclo de maturação. Heterose média, heterobeltiose e heterose padrão foram estimadas para a produção de bulbos. Foram observados diferenças significativas para as cultivares e para cultivar*época para as três variáveis analisadas. O híbrido comercial e Alfa RT apresentaram as maiores médias para PTB e PBC, 72,8 e 73,9 t/ha⁻¹, respectivamente, enquanto a VS Cascuda T6 x Botucatu e a cultivar Cascuda T6 obtiveram as menores produtividades. Para maturação, as cultivares de maior precocidade foram a Alfa RT, no primeiro semestre e Vale Ouro IPA11 no segundo. A heterose média para produção de bulbo comercial das VS foi negativa no primeiro semestre, e positiva em quatro VS no segundo. O valor da heterobeltiose para PBC das VS foi negativa no primeiro semestre, e positiva em três VS, no segundo semestre. A heterose padrão apresentou valor negativo para todas as VSs, tanto para PTB como para PBC, exceto para VS Alfa Rt x BRS Alfa São Francisco no primeiro semestre. Esses dados indicam limitações no desenvolvimento de VS Syn 0 como alternativa para a adoção de híbridos de cebola.

Palavras-chave: *Allium cepa*. Heterose. Heterobeltiose. Heterose padrão.

EVALUATION OF SYN-0 SYNTHETIC VARIETIES OF TROPICAL ONION POPULATIONS

ABSTRACT

Synthetic Varieties (SV) may be an alternative to the development of onion hybrids due to technological or socioeconomic limitations. The objectives of the present study were to develop and estimate the heterosis in VS Syn 0 of tropical onion as an alternative to the development of hybrids in the Brazilian northeast. Six SV, eight open pollinated populations and one commercial hybrid were evaluated in a randomized complete block design with three replicates at two different times. Total bulb yield (PTB), commercial bulb yield (PBC) and the maturation cycle were evaluated. Mean heterosis, heterobeltiosis and standard heterosis were estimated for the bulb yields. Significant differences were observed for cultivars and for cultivar*time for the three variables analyzed. The commercial hybrid and Alfa RT presented the highest averages for PTB and PBC, 72.8 and 73.9 t / ha⁻¹, respectively, while VS Cascuda T6 x Botucatu and the cultivar Cascuda T6 obtained the lowest productivities. For maturation, the highest precocity cultivars were Alfa RT, in the first semester and Vale Ouro IPA11 in the second semester. The mean heterosis for VS commercial bulb yield was negative in the first semester and positive in four VS in the second semester. The value of heterobeltiosis for PBC was negative in the first semester and positive in three VS in the second semester. Standard heterosis presented negative value for all VSs, both for PTB and PBC, except for VS Alfa Rt x BRS Alfa São Francisco in the first semester. These data indicate limitations in the development of VS Syn 0 as an alternative for the adoption of onion hybrids.

Keywords: *Allium cepa*. Heterosis. Heterobeltiosis. Standard heterosis.

INTRODUÇÃO

A cebola (*Allium cepa* L) é uma das plantas cultivadas que possui uma ampla distribuição no mundo e excelente potencial produtivo e econômico, sendo a terceira hortaliça em importância econômica no mundo e a terceira mais produzida no Brasil. (SANTOS et al 2015). No ano de 2017 a safra brasileira de cebola foi de 1.719.412 toneladas, em 58.001 hectares de área plantada, proporcionando uma produtividade média de 29,6 t/ha⁻¹ (IBGE, 2017). O cultivo concentra-se nas regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste. Na região Nordeste, os maiores produtores são os estados de Pernambuco e Bahia que alcançaram uma produtividade média de 22,4 e 29,9 t/ha⁻¹, respectivamente (IBGE, 2017).

Para Santos et al (2015) essa produtividade média por hectare ainda é baixa, devido grande parte do Nordeste, em contraste com outras regiões brasileiras que fazem amplo uso de híbridos, utilizar cultivares de polinização aberta (OPs), que proporcionam menor rendimento. De acordo com Santos et al (2010) as razões para o uso de cultivares de polinização aberta na região do Vale do São Francisco (VSF) é o custo elevado das sementes híbridas, susceptibilidade de alguns híbridos ao patógeno *Colletotrichum gloeosporioides* e a dificuldade de desenvolver híbridos tropicais adaptados as condições edafoclimáticas da região semiárida.

A manifestação da heterose presente nos híbridos pode ser observada na planta em várias características, como na produtividade, no tamanho do fruto e na precocidade (SINGH et al, 2017). Faria et al (2012), estudando o desempenho agrônomo e heterose de genótipos de cebola reportaram que para o desenvolvimento de cultivares de OP equivalentes aos híbridos é necessário a seleção de acessos adaptados e produtivos, para produção de variedades superiores na região. Segundo Ferreira (2017) o desenvolvimento de híbridos em regiões de clima tropical, como o Nordeste brasileiro, é de quatro a oito anos.

Uma alternativa ao desenvolvimento de híbridos de cebola para a região do VSF, é o desenvolvimento de variedades sintéticas (VS), que possibilita a exploração parcial do vigor de heterose. De acordo com Smith (2004), uma variedade sintética é desenvolvida a partir do cruzamento de linhas endogâmicas ou genótipos produzidos por alguma seleção. De acordo com Poehlman e Sleper (1995), a variedade sintética é considerada uma geração avançada, desenvolvida com um número limitados de parentais, e propagadas por um limitado numero de gerações por polinização aberta. Segundo Brown; Caligari e Campos (2014) a VS é denominada de acordo com o

número de gerações de polinização aberta que foram cultivadas, sendo que a primeira geração de uma variedade sintética, resultante do cruzamento de parentais, é denominada Syn-0.

As variedades sintéticas são recomendadas para regiões onde a produção de variedades híbridas não são viáveis por razões econômicas ou tecnológicas (RANGANATHA et al, 2016). Allard (1971) ressalta que além das vantagens de desenvolver variedades sintéticas com baixo custo na produção de semente, essas apresentam maior capacidade de adaptação ao ambiente.

Estudo com VS de milho realizado por Musa e Farid (2018), indica que as variedades sintéticas de *Zea mays* tolerante ao estresse hídrico, apresentaram o maior e melhor potencial de rendimento em comparação com as variedades OPs. Muraya; Omolo e Ndirangu (2006) desenvolveram duas variedades sintéticas de *Zea mays* com alta produção. Falk; Rakow e Downey (1998) desenvolveram como uma alternativa viável aos híbridos, cultivares sintéticas de *Brassica rapa* L.

Em *A. cepa*, os pioneiros em variedade sintética de cebola foram José Crnko e Ciro Cavia, que em 1958 recomendaram as variedades sintéticas Valenciana Synthetics 1 and 2 (GALMARINI, 2000). Posteriormente, em 1966 e 1970, Crnko and Lona lançaram a Valenciana Synthetic 14 e a Valenciana Synthetic 15, respectivamente (CRNKO, 1998).

Os objetivo do presente estudo foi desenvolver e estimar a heterose em variedades sintéticas Syn 0 de cebola tropical como alternativa ao desenvolvimento de híbridos no nordeste brasileiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Populações e variedades sintéticas de cebola

Bulbos de cebola de populações do programa de melhoramento da Embrapa Semiárido (Tabela 8) foram vernalizados no período de novembro de 2016 a março de 2017, em câmara fria a 8 °C e umidade relativa do ar em torno de 60%. Bulbos vernalizados das diferentes populações foram plantados em contentores (Figura 5) para produção de sementes, considerando distância mínima de 600 m entre eles, a fim de evitar contaminações entre os mesmos.

Tabela 8- Acessos utilizados nos cruzamentos para a formação de variedades sintéticas em Petrolina-PE.

Genótipos	Bulbo (cor)	Origem
BRS Alfa São Francisco	Amarelo	Embrapa Semiárido
Vale Ouro IPA11	Amarelo	IPA
Alfa São Francisco RT	Amarelo	Embrapa Semiárido
BRS Rio Vale	Amarelo	Embrapa Semiárido
BRS Carrancas	Vermelho	Embrapa Semiárido
Botucatu	Amarelo	Embrapa Semiárido
Cascuda T6	Amarelo	Embrapa Semiárido
Cascuda T7	Amarelo	Embrapa Semiárido

Sementes das variedades sintéticas Syn 0 foram obtidas dos cruzamentos BRS Alfa São Francisco x Vale Ouro IPA11, Cascuda T6 x Botucatu, Alfa Resistente ao Thrips x BRS Alfa São Francisco, Cascuda T7 x Botucatu, BRS Rio Vale X BRS Carrancas e Botucatu x BRS Carrancas. Alfa Resistente ao Thrips foi derivada da BRS Alfa São Francisco, enquanto as populações tipo valencianas BRS Rio Vale, BRS Carrancas e Cascuda T6 são resultantes de seleções realizadas dentro da população base CNPH 6400. As valencianas Botucatu e Cascuda T7 tem como origem a população Botucatu.



Figura 5- Plantio de bulbos para produção de sementes de variedades sintéticas de cebola.

Condições experimentais

Dois experimentos foram conduzidos no Campo Experimental de Bebedouro da Embrapa Semiárido, localizado no município de Petrolina-PE. O solo do local é definido como Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico plíntico. Segundo a classificação de Koeppen, a região apresenta clima do tipo BSh (semiárido, quente, com estação seca definida), com pluviosidade baixa e irregular, precipitação média de 470 mm.ano⁻¹ e temperatura média anual de 26,2 °C.

O primeiro experimento foi conduzido no período de Outubro de 2017 a Fevereiro de 2018, e o segundo experimento de Abril a Agosto de 2018. Em ambos experimentos o delineamento experimental foi em blocos casualizados, com 15 tratamentos: seis variedades sintéticas, oito populações (Tabela 8) e um híbrido comercial, em três repetições. As parcelas experimentais adotadas foram de 1,3 m x 1,5 m, com espaçamento entre linhas de 12 cm.

As mudas foram produzidas em sementeiras com dimensões de 1,5 m de largura. Foi utilizado 3,5 g de sementes de cada parental, totalizando 7 g para cada VS. O solo foi arado, gradeado e antes do transplântio foi adubado com 800 kg.ha⁻¹ de 06-24-12 de NPK. Nas adubações de cobertura foram utilizados 120 kg.ha⁻¹ de N, 60 kg.ha⁻¹ de K₂O, 60 kg.ha⁻¹ de Ca e 60 kg.ha⁻¹ de Mg, aplicados após o transplântio.

Plantas daninhas foram controladas com herbicida comercial, em seguida foram adotadas tratos culturais como capinas manuais e aplicações preventivas de defensivos para o controle de pragas e doenças com produtos registrados para a cultura.

A colheita foi realizada quando 70% das folhas se encontravam com a parte aérea tombada, indicando a maturação do bulbo. Após a colheita os bulbos foram curados ao sol por um período de três dias para retirar o excesso de umidade, mas com o cuidado de acomodar as plantas de modo que a parte aérea de uma protegesse o bulbo da outra planta. Após o período de cura foi eliminado o resto das raízes e parte aérea.

Análises estatísticas.

A produtividade foi estimada pelo peso de todos os bulbos comerciais para cada unidade experimental. As características avaliadas foram:

Produção de Bulbo comercial (PBC) – Obtida pela massa total dos bulbos com diâmetro >35 mm, considerados como bulbos comerciais, em t.ha⁻¹ (RESENDE;

COSTA, 2009);

Produção total de Bulbo (PTB) – Obtida pela massa total dos bulbos colhidos na parcela, t.ha⁻¹;

Maturação (MAT) - Obtida pelo número de dias da semeadura até o tombamento de 70% das plantas.

As análises de variância dos tratamentos foram realizadas com o auxílio do software SAS, considerando-se as análises dos experimentos individuais, bem como do conjunto dos experimentos. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste média Student-Newman-Keuls (SNK) ($p < 0,05$).

A estimativa da heterose média (Hm), heterobeltiose (Hps) e heterose padrão (Hp), foram realizadas para Produção total do Bulbo e Produção de Bulbo Comercial.

As expressões são descritas por Batool et al (2013), e Evoor et al (2007). Respectivamente são:

Heterose Média $Hm = (F1 - MP) / MP * 100\%$, **Heterobeltiose** $Hps = (F1 - BP) / BP * 100\%$ e **Heterose Padrão** $Hp = (F1 - PD) / PD * 100\%$.

Sendo, F1= média da primeira geração oriunda do cruzamento (variedade sintética), MP= média dos parentais, BP = média do melhor parental e PD= variedade comercial padrão, BRS Alfa São Francisco.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Produtividade total e comercial de bulbos e maturação em variedades sintéticas e populações de cebola

Foram observados efeitos significativos ($P < 0,01$) para as cultivares avaliadas no primeiro semestre nas três variáveis analisadas, bem como efeito de menor significância ($P < 0,05$) no segundo semestre para as mesmas variáveis (Tabela 9). Os coeficientes de variação para os diferentes caracteres agrônômicos avaliados, variaram de 3,5% a 11,4% no primeiro semestre e de 3,0% a 22,4% no segundo semestre (Tabela 9), indicando erros experimentais aceitáveis (FERREIRA, 2016).

Para produção de bulbo comercial, no primeiro semestre, o híbrido comercial apresentou a maior produtividade comercial (105,8 t/ha⁻¹), seguido da Alfa RT (88,9 t/ha⁻¹) e da variedade sintética Alfa RT X BRS Alfa São Francisco (70,0 t/ha⁻¹), enquanto as menores produtividades foram observadas para a VS Cascuda T6 x Botucatu e a cultivar Cascuda T6 (Tabela 9). Resultados diferentes do presente

estudo foram reportados por Falk; Rakow e Downey (1998), com variedades sintéticas de *Brassica rapa* produzindo 23% mais do que os parentais. No segundo semestre a cultivar Alfa RT apresentou a maior produtividade (45,5 t/ha⁻¹), seguida da BRS Alfa São Francisco (35,1 t/ha⁻¹) (Tabela 9). As cultivares Cascuda T6, Botucatu e VS Cascuda T6 x Botucatu, apresentaram as menores produtividades (Tabela 9), sugerindo que a baixa produção da VS Cascuda T6 x Botucatu foi devido as baixas produtividades dos parentais.

Resultados contrários aos do presente estudo foram reportados por Machida e Takizawa (1968) que observaram rendimento médio de uma variedade sintética de milho de 69,1 kg, enquanto a variedade de polinização aberta apresentou 52,9 kg. Musa e Farid (2018), ao compararem a produtividade de genótipos sintéticos de milho tolerantes as condições de seca, também observaram que os genótipos de milho sintético apresentaram o maior potencial de rendimento em relação as variedades de milho.

A média para maturação no primeiro e no segundo semestre foi de 132 e 109 dias, respectivamente (Tabela 9). As cultivares que se destacaram com ciclo mais curto foram a Alfa RT, no primeiro semestre e a Vale Ouro IPA11 no segundo, definindo-as como cultivares precoces (COSTA; RESENDE e YURI, 2016).

Foram observados efeitos significativos ($P < 0,01$) na análise conjunta dos experimentos para cultivares (C), época de plantio (S) e interação C*S para as três variáveis analisadas (Tabela 9). Os valores do coeficiente de variação foram inferiores a 20% (Tabela 9), indicando que as condições e erros experimentais foram aceitáveis (FERREIRA, 2016). Efeitos significativos para a interação variedades x ambiente foram encontradas também por Andrés-Meza et al (2016) em estudos de variedades de milho tropical sintético.

Foi observado maior produtividade para produção total e comercial no primeiro semestre em relação ao segundo semestre, que impactou na ordem de classificação, resultando na interação C*S: Alfa RT apresentou a maior produção no 2º semestre, enquanto o híbrido comercial foi o de maior produtividade no 1º semestre (Tabela 9). As temperaturas são mais elevadas nos meses de outubro, novembro e dezembro na região do estudo (SANTOS, 2011), que interfere na produtividade de bulbos. A alta temperatura também favorece o aumento da população do *Thrips tabaci*, principal praga da cebola, sendo que a Alfa RT é recomendada para plantio no segundo semestre e apresenta resistência a essa praga.

De acordo com Quartiero et al (2014), a temperatura sofre variação em função da época do ano, sugerindo que essas cultivares podem ter sido influenciadas por fatores ambientais, como a temperatura. Ainda segundo Costa; Resende e Yuri (2016), a ausência de condições climáticas que atendam às exigências da cultivar, pode resultar na formação de bulbos com baixo valor comercial.

As variedades sintéticas Syn 0 BRS Alfa SF x Vale Ouro IPA11, Alfa RT x BRS Alfa SF, BRS Rio Vale x BRS Carrancas e Botucatu x BRS Carrancas apresentaram média de produção de bulbo comercial estatisticamente semelhante as cultivares comerciais BRS Alfa São Francisco, Vale Ouro IPA 11, BRS Carrancas e BRS Rio Vale, na média dos dois experimentos (Tabela 9).

Sprague e Jenkins (1943) relataram a produtividade próxima de cinco variedades sintéticas de milho, e variedades adaptadas de polinização aberta. No entanto, os autores ressaltaram que nenhuma delas podem ser consideradas como uma VS produtiva, por não apresentarem superioridade em relação as variedades comerciais. Para Faria et al (2012), do ponto de vista teórico, as VS devem ser mais produtivas do que os pais, por serem espécie alógama, que podem apresentar alta heterozigosidade.

A diferença no ciclo de maturação na análise conjuntas (1^o + 2^o semestre) foi de 16 dias, sendo que uma cultivar comercial apresentou maior precocidade, 112 dias, enquanto duas VS avaliadas apresentaram ciclo de 118 dias, não diferindo estatisticamente cultivar comercial de maior precocidade (Tabela 9).

Estimativas de Heterose, Heterobeltiose e Heterose padrão em variedades sintéticas de cebola.

O valor de heterose em relação à média dos parentais (Hm) para produção total de bulbos no primeiro semestre foi negativo para quatro VS e positivo para apenas duas VS. Ao contrário desses valores, Li et al (2018) avaliando interações ambientais em genótipos de milho, para 25 características observaram que 16, exibiram valores de heterose padrão maiores que 90% para o rendimento de grãos. No segundo semestre apenas duas VS apresentaram valores negativos para heterose média (Tabela 10). Na média das duas avaliações apenas duas VS apresentaram valores negativos (Tabela 10).

Para produção comercial de bulbos a Hm foi negativa para todas as VS no primeiro semestre. De acordo com Maciel et al (2010), heterose para produtividade

com baixa magnitude em relação à média total indica a predominância de efeitos aditivos na expressão do caráter. A heterose ocorre quando a interação alélica é não aditiva, ou seja, tem que haver alguma dominância. No segundo semestre Hm foi positiva em quatro VS sendo que na média das duas avaliações três VS apresentaram valores positivos para Hm (Tabela 10). Dufera; Bulti e Girum (2018) em estudos visando o desenvolvimento de híbridos de milho e variedades sintéticas, estimaram a heterose padrão de linhas puras para rendimento de grãos, mas nenhum dos cruzamentos mostrou heterose padrão positiva para essa variável.

O valor de heterobeltiose em relação à média do pai superior (Hps) para produção total de bulbos no primeiro semestre foi positivo para apenas uma VS, e duas VS, no segundo semestre, com média positiva para apenas uma VS (Tabela 10). Resultados contrários foram encontrados em *Z. mays* por Li et al (2018) que avaliando 25 características, reportaram heterobeltiose positiva para todas elas. Para produção comercial de bulbos a Hps foi negativa para todas as VS no primeiro semestre e positiva para três VS no segundo semestre, sendo que na média das duas avaliações nenhuma VS apresentou valor positivo (Tabela 10).

O valor da heterose padrão (Hp), tendo como padrão a BRS Alfa São Francisco com produtividade para produção total, no primeiro e segundo semestre de 68,13 e 39,48 t/ha⁻¹, respectivamente, e de bulbo comercial de 62,75 e 35,09 t/ha⁻¹ respectivamente, foi negativa para todas as VSs tanto para produção total de bulbos, como para produção comercial de bulbos, nos dois semestres de avaliações, exceto para Alfa Rt x BRS Alfa São Francisco no primeiro semestre que teve produtividade total e comercial de bulbos de 73,31 e 69,99 t/ha⁻¹, respectivamente (Tabela 9). Em estudos visando o desenvolvimento de híbridos de milho e variedades sintéticas Dufera; Bulti e Girum (2018) estimaram a heterose padrão de linhas puras para rendimento de grãos, mas nenhum dos cruzamentos mostrou heterose padrão positiva para essa variável.

Valores positivos da Hm para produção total e comercial de bulbos, foram observados apenas no segundo semestre para as VSs Cascuda T6 x Botucatu (18,9 e 6,0%), Cascuda T7 x Botucatu (17,8 e 19,5%), BRS Rio Vale x BRS Carrancas (1,1 e 8,6%) e Botucatu x BRS Carrancas (14,1 e 14,5%), mas, não foram superiores aos valores da Hp (Tabela 10). O valor da heterose padrão (Hp) é de maior importância, pois atesta a possibilidade de uma VS ter potencial competitivo de mercado em, relação a uma cultivar. Ito e Currence (1965), em estudo com *Asparagus officinalis*

também encontraram heterose positiva, mas, não observaram produtividade superior as cultivares comerciais.

Apenas a VS Cascuda T6 x Botucatu apresentou valor positivo de heterobeltiose na média dos dois experimentos (Tabela 10). Evoor et al (2007) reportaram valores de heterobeltiose para produção de bulbos comerciais variando de -30,14% a 45,31%, enquanto que Abubakar e Ado (2007) reportaram valores de heterose e heterobeltiose para produtividade de bulbos de cebola variando de -78,82 a 24,73% e -88,30% a 3,08%, respectivamente, corroborando com os resultados obtidos no presente estudo.

Valor de heterose positivo por si só não é sinônimo de alta produção, pois a heterose retrata a superioridade (ou não) em relação à média dos parentais, sendo assim, a heterose pode apresentar valor positivo e ser numericamente elevada, pela baixa produção dos genitores. Segundo Dufera; Bulti e Girum (2018), mesmo o híbrido sendo inferior ao pai de menor performance, e apresentando heterose positiva ou negativa, é considerado como heterose.

No presente experimento, as VS com maior valor de heterose (Hm) positiva para produção total de bulbo foram a Cascuda T6 x Botucatu, e Cascuda T7 x Botucatu, e para produção comercial de bulbo, Cascuda T7 x Botucatu. No entanto, não foram os mais produtivos, tendo sido, inclusive, inferior as demais VS e as demais cultivares comerciais (Tabela 9).

Os valores negativos das heteroses das VSs do presente estudo podem estar associados à alta heteroziguidade e ausência de fixação de alelos recessivos intra populacional reportados no capítulo desse estudo, mesmo para parentais derivados da mesma população base, como BRS Rio Vale, BRS Carrancas, e cascuda T6 derivadas da CNPH 6400, Alfa RT derivada da BRS Alfa São Francisco e Botucatu e Cascuda T7 derivadas da população base Botucatu. Outro fator que deve ter influenciado os valores negativos das heteroses foi a baixa taxa de polinização cruzada estimada no capítulo I desse estudo. Onde as populações avaliadas por marcador morfológico apresentaram taxas de polinização cruzada de 15%, 39%, 37% e 22%, e com microssatélites as estimativas de polinização cruzada foram de 40%, 33%, 71% e 27%.

CONCLUSÕES

As variedades sintéticas não apresentaram superioridade em relação a cultivar comercial padrão, BRS Alfa São Francisco, indicando ausência do vigor de heterose padrão.

As maiores médias de produtividades total e comercial, das variedades sintéticas, foram para Alfa RT x BRS Alfa São Francisco, e BRS Rio Vale x BRS Carrancas, enquanto a menor produtividade foi para a variedade sintética Cascuda T6 x Botucatu.

As maiores produtividades médias de bulbos comerciais foram observadas para as cultivares Alfa RT, Vale Ouro IPA 11, BRS Carrancas e BRS Rio vale, mostrando ser promissores em combinações sintéticas, visando maior produtividade. Enquanto as cultivares, Cascuda T6 e Botucatu, apresentaram as menores produções de bulbos.

REFERÊNCIAS

- ABUBAKAR, L.; ADO, S. G. Heterosis of purple blotch (*Alternaria porri* (Ellis) Cif.) resistance, yield and earliness in tropical onions (*Allium cepa* L.). **Euphytica**, v. 164, p. 63–74, 2008.
- ALLARD, R. W. **Princípios do Melhoramento Genético das Plantas**. São Paulo: Edgard Blucher, 1971.
- ANDRÉS-MEZA, P. et al. Calidad de grano en variedades sintéticas tropicales de maíz. **Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias**, v. 3, n. 8, p. 9–16, 2016.
- BATOOL, A. et al. Estimation of heterosis, heterobeltiosis and potence ratio over environments among pre and post green revolution spring wheat in Pakistan. **Journal of Basic & Applied Sciences**, v. 9, p. 36–43, 2013.
- BROWN, J.; CALIGARI, P.; CAMPOS, H. Breeding Schemes. In: BROWN, J.; CALIGARI, P.; CAMPOS, H. (Eds.). **Plant Breeding**. 2. ed. Índia: Wiley Blackwell, 2014. v. 91p. 296.
- COSTA, N. D.; RESENDE, G. M. DE; YURI, J. E. Cebola: escolha adequada. **Cultivar HF**, v. 14, n. 97, p. 6–8, 2016.
- CRNKO, J. Historia de la estación experimental agropecuaria INTA La Consulta. In: **Libro del cincuentenario 1948-1998**, 1998.
- DUFERA, T.; BULTI, T.; GIRUM, A. Heterosis and combining ability analysis of quality protein maize (*Zea mays* L.) inbred lines adapted to mid-altitude sub-humid agroecology of Ethiopia. **African Journal of Plant Science**, v. 12, n. 3, p. 47–57, 2018.
- EVOOR, S. et al. Heterosis for yield, yield components and quality traits in onion (*Allium cepa* L.). **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, v. 20, n. 4, p. 813–815, 2007.
- FALK, K. C.; RAKOW, G. F. W.; DOWNEY, R. K. The utilization of heterosis for seed yield in hybrid and synthetic cultivars of summer *turnip rape*. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 78, n. 3, p. 383–387, 1998.
- FARIA, M. V et al. Desempenho agrônômico e heterose de genótipos de cebola. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 220–225, 2012.
- FERREIRA, G. DE O. **Resistência ao *Thrips tabaci*: avaliação em acessos de cebola e em ciclos de seleção recorrente na 'BRS Alfa São Francisco**. 2016. 88f Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia.
- FERREIRA, R. R. **Identificação molecular do locus restaurador da macho-fertilidade (Ms), tipo de citoplasma e viabilidade de pólen em acessos de cebola (*Allium cepa* L.)**. 2017. 114f Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

GALMARINI, C. R. Onion cultivars released by la consulta experiment station, INTA, Argentina. **HortScience**, v. 35, n. 7, p. 1360–1362, 2000.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola**, v. 30, n. 12, p. 1–82, 2017. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/2017/lspa_201712.pdf. Acesso em: 01 Novembro. 2018.

ITO, P.; CURRENCE, T. Inbreeding and heterosis in asparagus. **Hort. Sci**, v. 86, p. 338–346, 1965.

LI, Z. et al. Genotype-by-environment interactions affecting heterosis in maize. **Plos One**, v. 13, n. 1, p. 1–16, 2018.

MACHIDA, T. O. R. U.; TAKIZAWA, Y. A. Breeding of synthetic variety cross of maize in Japan. **Japan International Research Center for Agricultural Sciences**, v. 3, n. 1, p. 6–9, 1968.

MACIEL, G. M. et al. Heterose e capacidade combinatória de linhagens de tomateiro ricas em açúcares. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 5, p. 1161–1167, 2010.

MURAYA, M. M.; OMOLO, E. O.; NDIRANGU, C. M. Development of high yielding synthetic maize (*Zea mays* L.) varieties suitable for intercropping with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Asian Journal of Plant Sciences**, v. 5, n. 1, p. 163–169, 2006.

MUSA, Y.; FARID, M. Advanced yield potential test on synthetic genotype of maize tolerant to drought and low nitrogen. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 157, n. 1, p. 1-5, 2018.

POEHLMAN, J. M.; SLEPER, D. **Breeding Field Crops**. 4. ed. United States of America: Wiley, 1995.

QUARTIERO, A. et al. Desempenho agrônômico, heterose e estabilidade fenotípica de genótipos de cebola. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 3, p. 259–266, 2014.

RANGANATHA, A. R. et al. Niger. In: SURINDER, K. G. (Ed.). **Breeding Oilseed Crops for Sustainable Production: Opportunities and Constraints**. United States of America: Academic Press, 2016. p. 169–199.

RESENDE, G. M; COSTA, N. D. Yield and storage of onion (*Allium cepa* L.) submitted to nitrogen and potassium levels through fertirrigation in summer planting. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 5, p. 1314-1320, 2009.

SANTOS, C. A. et al. Marker-assisted selection of maintainer Marker-assisted selection of maintainer lines within an onion tropical population. **Sci. Agric**, v. 67, n. 2, p. 223–227, 2010.

SANTOS, C. A. F. Melhoramento do feijão-caupi para temperaturas moderadas e elevadas no Vale do São Francisco. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 4, p. 1151-1162, 2011.

SANTOS, R. L. et al. Estimativas de capacidades de combinação em cebola para resistência a raiz rosada e caracteres agronômicos. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 2, p. 133-137, 2015.

SINGH, B. et al. Harnessing Heterosis in Vegetable Crops: A Means for Achieving High Productivity and Profitability. In: CHADHA, K. et al. (Eds.). **Doubling Farmers Income through Horticulture**. New Delhi: ASTRAL, 2017. p. 263–278.

SMITH, S. E. Breeding Synthetic Cultivars. In: GOODMAN, R. M. **Encyclopedia of Plant and Crop Science**. 1. ed. United States of America: CRC Press Taylor & Francis Group, 2004. p. 1360.

SPRAGUE, G. F.; JENKINS, M. T. A comparison of synthetic varieties, multiple crosses, and double crosses in corn. **Agronomy Journal**, v. 35, n. 2, p. 137, 1943.

Tabela 9. Análises de variância individual e conjunta para produção total de bulbos (PTB), bulbo comercial (PBC) e maturação de bulbos, estimadas em seis populações sintéticas Syn 0, oito cultivares e um híbrido de cebola. Petrolina- PE.

Tratamentos	PTB (t/ha ⁻¹)			PBC (t/ha ⁻¹)			MAT (Dias)		
	Semestre			Semestre			Semestre		
	1º	2º	1º e 2º	1º	2º	1º e 2º	1º	2º	1º e 2º
BRS Alfa SF x Vale Ouro IPA11	64,06 ^{CDEF}	28,76 ^{BC}	49,94 ^{BC}	56,97 ^{CDE}	22,89 ^{BC}	43,34 ^{BC}	142 ^A	113 ^A	128 ^A
Cascuda T6 x Botucatu	46,54 ^F	23,10 ^{BC}	37,16 ^{CD}	42,08 ^E	15,71 ^C	31,53 ^{CD}	128 ^{BCDEF}	108 ^A	118 ^{BCD}
Alfa RT x BRS Alfa SF	73,31 ^C	33,09 ^{ABC}	53,20 ^B	69,99 ^C	27,8 ^{4BC}	48,92 ^B	123 ^{EFG}	112 ^A	118 ^{BCD}
Cascuda T7x Botucatu	48,75 ^F	26,01 ^{BC}	37,38 ^{CD}	44,06 ^{DE}	20,85 ^{BC}	32,46 ^{CD}	139 ^{ABC}	110 ^A	124 ^{AB}
BRS Rio Vale x BRS Carrancas	62,88 ^{CDEF}	34,38 ^{ABC}	51,48 ^B	55,64 ^{CDE}	31,15 ^{ABC}	45,84 ^{BC}	142 ^A	112 ^A	127 ^A
Botucatu x BRS Carrancas	59,58 ^{CDEF}	31,58 ^{ABC}	45,58 ^{BC}	52,17 ^{CDE}	25,94 ^{BC}	39,05 ^{BCD}	142 ^A	112 ^A	127 ^A
BRS Alfa SF	68,13 ^{CD}	39,48 ^{AB}	53,81 ^B	62,75 ^{CD}	35,09 ^{AB}	48,92 ^B	121 ^{FG}	109 ^A	115 ^{CD}
Vale Ouro IPA11	66,56 ^{CDE}	38,51 ^{AB}	52,54 ^B	62,63 ^{CD}	33,33 ^{ABC}	47,98 ^B	128 ^{CDEF}	97 ^B	112 ^D
Cascuda T6	46,58 ^F	19,28 ^C	32,93 ^D	42,63 ^E	14,56 ^C	28,60 ^D	133 ^{ABCDE}	110 ^A	122 ^{AB}
Botucatu	54,71 ^{DEF}	19,57 ^C	37,14 ^{CD}	50,76 ^{CDE}	15,07 ^C	32,92 ^{CD}	126 ^{DEFG}	109 ^A	118 ^{BCD}
Alfa RT	91,43 ^B	47,64 ^A	73,91 ^A	88,92 ^B	45,51 ^A	71,55 ^A	117 ^G	110 ^A	114 ^D
Cascuda T7	58,42 ^{CDEF}	24,59 ^{BC}	41,51 ^{BCD}	53,57 ^{CDE}	19,82 ^{BC}	36,70 ^{BCD}	139 ^{ABC}	107 ^A	123 ^{AB}
BRS Carrancas	62,56 ^{CDEF}	35,77 ^{ABC}	49,17 ^{BC}	55,64 ^{CDE}	30,25 ^{ABC}	42,94 ^{BC}	140 ^{AB}	113 ^A	127 ^A
BRS Rio Vale	62,49 ^{CDEF}	32,23 ^{ABC}	47,36 ^{BC}	58,61 ^{CDE}	27,12 ^{BC}	42,87 ^{BC}	133 ^{ABCDE}	110 ^A	122 ^{ABC}
Híbrido Comercial	108,51 ^A	37,07 ^{AB}	72,79 ^A	105,79 ^A	33,28 ^{ABC}	69,54 ^A	137 ^{ABCD}	105 ^A	121 ^{ABC}
BLOCO	717,3 ^{**}	63,1 ^{ns}	416,4 [*]	1029,6 ^{**}	84,7 ^{ns}	607,8 [*]	56,3 ^{ns}	27,0 ^{ns}	80,0 [*]
CULTIVAR (C)	817,1 ^{**}	160,1 [*]	710,9 ^{**}	891,7 ^{**}	180,5 [*]	785,6 ^{**}	210,8 ^{**}	48,4 [*]	153,9 ^{**}
SEMESTRE (S)	-	-	23699,3 ^{**}	-	-	23703,2 ^{**}	-	-	12413,8 ^{**}
C*S	-	-	218,1 ^{**}	-	-	233,0 ^{**}	-	-	105,3 ^{**}
RESÍDUO	43,1	31,3	49,7	47,2	34,8	58,7	21,2	10,8	15,6
CV(%)	10,1	17,9	14,4	11,4	22,4	17,4	3,5	3,0	3,3
MÉDIA	64,9	31,2	48,8	60,1	26,3	44,0	132	109	121

NS, ** E * = NÃO SIGNIFICATIVO, SIGNIFICATIVO A 1 % E 5 % DE PROBABILIDADE PELO TESTE F, RESPECTIVAMENTE. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NAS COLUNAS, NÃO DIFEREM ENTRE SI AO NÍVEL DE 5% PELO TESTE DE SNK.

Tabela 10. Heterose em relação à média dos parentais (Hm), Heterobeltiose em relação à média do pai superior (Hps) e heterose em relação à média da variedade comercial padrão (Hp), em variedades sintéticas (VS) de cebola, para Produção Total de Bulbos (PTB) e Produção de Bulbo Comercial (PBC).

VS	Heterose, Heterobeltiose e Heterose padrão (%)																	
	PTB (t/ha ⁻¹)									PBC (t/ha ⁻¹)								
	Hm			Hps			Hp			Hm			Hps			Hp		
	Semestre			Semestre			Semestre			Semestre			Semestre			Semestre		
	1º	2º	Média	1º	2º	Média	1º	2º	Média	1º	2º	Média	1º	2º	Média	1º	2º	Média
1	-4,8	-26,2	-15,6	-6,0	-27,2	-16,6	-6,0	-27,2	-16,6	-9,1	-33,1	-21,1	-9,2	-34,8	-22,0	-9,2	-34,8	-22,0
2	-8,1	18,9	5,4	-14,9	18,0	1,6	-31,7	-41,5	-36,6	-9,9	6,0	-1,9	-17,1	4,3	-6,4	-32,9	-55,2	-44,1
3	-8,1	-24,0	-16,1	-19,8	-30,5	-25,2	7,6	-16,2	-4,3	-7,7	-30,9	-19,3	-21,3	-38,8	-30,1	11,5	-20,7	-4,6
4	-13,8	17,8	1,9	-16,6	5,8	-5,4	-28,5	-34,1	-31,3	-15,5	19,5	2,0	-17,8	5,2	-6,3	-29,8	-40,6	-35,2
5	0,5	1,1	0,8	0,5	-3,9	-1,7	-7,7	-12,9	-10,3	-2,6	8,6	3,0	-5,1	3,0	-1,1	-11,3	-11,2	-11,3
6	1,6	14,1	7,9	-4,8	-11,7	-8,2	-12,6	-20,0	-16,3	-1,9	14,5	6,3	-6,2	-14,3	-10,2	-16,9	-26,1	-21,5
M	5,5	0,3	-	-10,3	-8,3	-	-13,1	-25,3	-	-7,8	-2,6	-	-12,8	-12,6	-	-14,8	-31,4	-

1=BRS Alfa São Francisco x Vale Ouro IPA11, 2 = Cascuda T6 x Botucatu, 3 = Alfa RT x BRS Alfa SF, 4 = Cascuda T7 x Botucatu, 5 = BRS Rio Vale x BRS Carrancas, 6 = Botucatu x BRS Carrancas. M=média

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho foi de suma importância para o desenvolvimento de variedades sintéticas (VS) Syn 0 de cebola, com alta produtividade e adaptadas às condições ambientais do Vale do São Francisco. As VS podem ser uma alternativa ao desenvolvimento de híbridos, pois as empresas públicas brasileiras não dominam essa tecnologia.

Os desafios enfrentados para o desenvolvimento de VS foram a baixa produtividade das mesmas em relação aos parentais. Demonstrando limitações para o desenvolvimento de VS Syn 0 como alternativa para a adoção de híbridos de cebola. A baixa produtividade das VSs pode estar associada a baixa taxa de polinização cruzada das VS. Novos estudos devem ser realizados considerando autofecundação das cultivares para realização de novos cruzamentos de forma a elevar a heterose das VS oriundas de parentais com elevada endogamia.

As estimativas das taxas de polinização cruzada foram limitadas pelo baixo número de microssatélites com polimorfismo adequado nos parentais. O baixo número de microssatélites está associado a baixa diversidade alélica dos parentais e na ausência da condição ideal e necessária de alelos recessivos ou dominantes em homozigose nos parentais. Era esperado parentais em homozigose, uma vez que os alguns foram derivados da mesma população base, como BRS Rio Vale, BRS Carrancas, e Cascuda T6 derivadas da CNPH 6400, Alfa RT derivada da BRS Alfa São Francisco e Botucatu e Cascuda T7 derivadas da população base Botucatu. Novas genotipagens são indicadas com microssatélites publicados recentemente, que se baseiam em sequenciamento de sequências expressas (ESTs). Outra alternativa é utilizar marcadores de Polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) que apesar de possuírem um custo elevado, possibilitam genotipagem mais ampla do genoma, aumentando as chances de loci em homozigose.

As principais conclusões obtidas no capítulo I e II dessa Dissertação foram:

- A estimativas da taxa de polinização cruzada e de heterozigosidade com base na contagem direta de alelos de locus SSR, sendo, provavelmente, estudo pioneiro em populações de cebola tropical.
- As taxas de polinização cruzada através de marcadores fenotípicos variaram de 15% a 39%, com média 28,2%, e com loci SSRs variaram de 33% a 71%, com média de 42,7%. Essas taxas de polinização cruzada são consideradas

baixas para uma espécie alógama, como cebola. Essas estimativas indicam que a espécie tolera mistura de polinização cruzada e autopolinização intra populacional.

- Embora as variedades sintéticas Syn-0 BRS Alfa SF x Vale Ouro IPA11, Alfa RT x BRS Alfa SF, BRS Rio Vale x BRS Carrancas e Botucatu x BRS Carrancas tenham apresentado média de produção de bulbo comercial estatisticamente semelhante às cultivares comerciais BRS Alfa São Francisco, Vale Ouro IPA 11, BRS Carrancas e BRS Rio Vale, apenas a VS Alfa RT x BRS Alfa São Francisco superou a produtividade da cultivar padrão BRS Alfa São Francisco no primeiro semestre. Desse modo, a baixa produtividade das VS em relação a cultivar comercial padrão, BRS Alfa São Francisco, indica ausência do vigor de heterose padrão, e que as VS apresentaram baixo potencial produtivo para substituir populações de polinização aberta e híbridos comerciais.
- A população que apresentou maior taxa de polinização cruzada foi a BRS Rio Vale x Botucatu, sendo a BRS Rio Vale x BRS Carrancas a menor taxa.
- Os loci SSRs AMS 03, ACM 004, ACM 006 e ACM091 são indicados para identificação de híbridos resultantes de polinização natural ou artificial nos cruzamentos BRS Alfa São Francisco x Vale Ouro IPA 11, Alfa Resistente ao thrips x BRS Alfa São Francisco, BRS Rio Vale x Botucatu e Cascuda T6 x Botucatu.
- As estimativas das heterozigosidades em oito populações de cebola variaram 0,82 a 1,0, sugerindo o desenvolvimento de populações de polinização aberta com grande potencial produtivo e com maior poder de adaptação as adversidades bióticas e abióticas.
- Observou-se efeitos significativos no primeiro semestre para as cultivares e interação Cultivar*Época para as três variáveis analisadas.
- O híbrido comercial e Alfa RT apresentaram as maiores médias para PTB e PBC, 72,8 e 73,9 t/ha⁻¹, respectivamente, enquanto a VS Cascuda T6 x Botucatu e a cultivar Cascuda T6 as menores produtividades.
- As populações Alfa RT, Vale Ouro IPA 11, BRS Carrancas e BRS Rio Vale, apresentaram as maiores produtividades médias para peso total e comercial de bulbos em relação as demais variedades avaliadas, mostrando ser promissores em combinações sintéticas, visando maior produtividade.

- As variedades que mostraram maior precocidade para maturação foram a Alfa RT, no primeiro semestre e a Vale Ouro IPA11 no segundo.
- As maiores médias de produtividades total e comercial, das variedades sintéticas, foram para Alfa RT x BRS Alfa São Francisco, e BRS Rio Vale x BRS Carrancas.
- A heterose média para produção total de bulbos das VSs sintéticas, foi positiva para duas VS no primeiro semestre, e positiva em quatro VSs no segundo.
- Para produção de bulbo comercial, todas as variedades sintéticas apresentaram heterose média negativa no primeiro semestre, e positiva em quatro no segundo semestre.
- O valor de heterobeltiose para produção total de bulbos no primeiro semestre foi positivo para uma VS, e positiva em duas VSs, no segundo semestre. A heterobeltiose para produção comercial de bulbos apresentou valor negativo para todas as variedades sintéticas no primeiro semestre, e positiva para três VS no segundo semestre.

ANEXOS

ANEXO A - Lista, tamanho esperado e sequência dos loci SSRs desenvolvidos por Jackse et al, (2005).

SSR	Tamanho esperado (pb)	Forward	Reverse
ACM004	203, 206, 213	TCGTTCTTTAGAACACGTTAGGAA	TGTCGGCGGATATAGTGACA
ACM006	220,223,226,232	GCAGTTCTCCCTTTGTAAAATCA	GTGATGGATGAGTGGATGGA ^w
ACM024	120,123,126,131, 134,137,140	CCCCATTTTCTTCATTTTCTCA	TGCTGTTGCTGTTGTTGTTG
ACM 045	264, 267,269,271	AAAACGAAGCAACAAACAAAA	CGACGAAGGTCATAAGTAGGC ^w
ACM 068	277, 281	CGAAGGTGAAGGTGTACGGT ^w	CAAATGGCTGCAATAAGCAA
ACM 071	162, 166, 167, 170	TCTCATTTCAACTTTCTACCTATCC	CTGACATTTGCTCGACTGGA ^w
ACM 078	282, 288	CGCAGAATCTCGTCCTTTTT ^w	AATGGTTTGGAGGTCAGTCG
ACM 082	200, 203, 206, 209	CACCGTTCCTCAGCTCACTT	AGAGGGACGAAATGAAAGCA
ACM 091	177, 183	TCTCCTCCTCTAACCAGCCA	GGTGCTCCAGTTGAGCTTTC
ACM 101	209, 212, 215, 221	CCTTTGCTAACCAAATCCGA	CTTGTTGAGAAGGAGGACGC

ANEXO A - Continuação

SSR	Tamanho esperado (pb)	Forward	Reverse
ACM 102	151, 154, 160	TGGATTTGTGAACAACCGAA	GATGCAGGCAGTGTTTTGAA
ACM 119	252, 255, 261, 265	TTTCAGCAACATAGTATTGCGTC	TCTTCGGGATTGGTATGGAG ^w
ACM 124	220, 228, 245	GCAAACCTTGAATCCCTTCCA ^w	AACCCGTTAAGAGGAGGGAA
ACM 132	200, 202, 204, 206, 208, 212, 220, 224, 228	ATGGGGCCTGGTAAGTTTTT	TGCACACCGTTTCCATTTTA
ACM 133	191, 193, 196, 198	CCACATGGATGAAAAACACAA ^w	CGCTGGTAGCTGAAGCAAAT
ACM 134	192, 200, 201, 204	ACACACACAAGAGGGAAGGG	CACACACCCACACACATCAA ^w
ACM 138	235, 239, 247, 264, 268	ACGGTTTGATGCACAAGATG	CCAACCAACAGTTGATACTGC ^w
ACM 152	229, 241, 244	TCCAAGAGTCCAAGAATGG ^w	TGTTCTCCCTTAAACAGTGCAA
ACM 169	259, 261, 267	ACTTTCCCCTCCAACATTC ^w	TAGCACAAGGAGGGTCGAGT
ACM 187	228, 260, 262, 264	GTA CT CGGGCAGTGGAGGTA	GGAGCTGTCCAAATGCTAGG ^w

^zSSR = Sequência Simples Repetida, ^yEST = Expressed Sequence Tag, x, w Sequência do primer 5´-GACGTTGTAAAACGACGGCC. Primers desenvolvidos por Jackse et al (2005).

ANEXO B - Lista, tamanho esperado e sequência dos loci SSRs desenvolvidos Fischer e Bachmann et al (2000).

SSR	Tamanho esperado (pb)	Microsatellite motif	Forward and reverse primer (5' to 3')
AMS 01	126	(TGTA)5 (TG)9 GAAGAA	TCT TCC TAT AAT CTT CTC CTT TTG A TTC TAA CAC TTT TGT GCA CTC AA
AMS 02	530	CCACACCACACACACCACCA CACACCACA	GCA TTA ACT ATC TAA AAC ATT G CCA TCA ACT CAT AAC AGG T
AMS 03	121	(GT)21	TAA CCC TAG GAT GAG TTG AG GGA TTT CCT CTT GAG ATG A
AMS04	204	(GTTTT)3 CTCTT(CT)3 (TTC)4 / TC(TTC)2 (TC)2 TTCTTTTC TTTCTCT	TAT GTT TTC AGC TGC GAT GTG AG AAA TCT AAG CAC GGA TAC CAA GTG
AMS05	229	(AT)9 (GT)18 (CT)3	TTG AAA TAG TGA GTT AAG CAT G ACG TGA ATT ATG AAG TGG AG
AMS06	147	(TA)3 TG (TA)3 (CA)18 (TA)2	GGT GCA TAG GGT CTC ATC TG ATT GAT TGT TTG TTT GGA TGT G
AMS07	114/174	GTTTCTGTTT (CTT)6 (TC)2 TTT(CTT)2	TGC GAA TGT GAG GTT TTC TGC CGA CCC GGA AAT TTC GAT C
AMS08	205	(CTT)3 T (CTT)14 TT (CT)2 TCT	GCC ACG ATG TTG AGA TTT CG CCC GAA TAT CCC ACC AGT TC
AMS09	278	(AT)9 (GT)19	ACA ACT TTC AAT TGC ATT C CGT GGA CTA ACT TAC TAT CTA TC
AMS10	157	(AT)4 (GT)16	TTC ATG TTG TAT TGA GAT TTG G GAA GGA ATG GAA GCA GTT C
AMS11	92	(TC)23	CGA CGA ACC AAT ACC CTA TC TGG ATA GGG GTA GAA TTC AAG
AMS12	274	(CA)25	AAT GTT GCT TTC TTT AGA TGT TG TGC AAA ATT ACA AGC AAA CTG

ANEXO B - Continuação

SSR	Tamanho esperado (pb)	Microsatellite motif	Forward and reverse primer (5' to 3')
AMS13	168	(GT)27 (AT)2	ACC TTT TAA ATT GAC GAT ATT CC CTG CAC TAT TCT GTG ATG TAT TTC
AMS14	169	(CA)28 (TA)4	CCC CTG AGT AAA TTC AAA ATC C TCC TTA GTA TAA TTT CGG GGT AAC
AMS15	229	(GA)24	ACC CCG AAC CAC GTA AAC C CCG ATT TTC CTT GCA TTC G
AMS16	261	(CA)20 (TA)2	CTG CAT TAA AAC AAC CAA ACT TG GAG CTC CAC TTC TTC CAA ACT AG
AMS17	264	(CA)7 TG (CA)21 (TA)3	AGT GGA CTC AAG GCA GAT G ATC ACC ATT CAC CGT TTA CT
AMS18	195	(CA)20 (TA)3	ACT CGG GT GTT ATT CCA T CCA ATC AGA CAT ACC ATA CAA TC
AMS19	131	GAAAAGAAGAAAGAGAAA (GAA)5 ACAGAA	GCT CTG ATA CCA AAT GTA ACG A CGA ATG TGA GGT TTT CTG C
AMS20	372	(GT)24	TTG AGC AGC AGA ACC AGA C ATT CGG ACG CAA CAC ATC
AMS21	264	(CA)25	GGT TGT TTC CAC TAC ACT TGA G CGT CCT TGG TAT TCT TGT GC
AMS22	310	(TG)21	CAC CGT TTC CAT AAT CAA GG ATT TTT TGG GCA TTG TTG G
AMS23	157	(AT)5 (GT)19	GCT GTT CAC TGG TCT ATC TGG ATT CGG TGC TGA TTT TCG
AMS24	161	(TA)3 (CATA)7 ATA (CA)5 A (CA)15	GCT AAG TAG AAA CTA AGC GAT TGT TCA AAA ACA CCA AGC ACA TT

ANEXO B - Continuação

SSR	Tamanho esperado (pb)	Microsatellite motif	Forward and reverse primer (5' to 3')
AMS25	235	(AC)21 (AT)3	GAG GGC AGT GTT AGC ATTCC GCA ACC TTT CCC CGA GAG
AMS26	213	(A)5 (CA)16	ATC TAA TCA AAG CAT AGT TG TTG TCC AAG TAG TTG TGA
AMS27	318	(AT)7 (GT)25	TCC ACG AAT GAT TAC AAC ACA ACG CAA AAG TTC TTA
AMS28	250	(AT)2 (AC)23	GTT GTC CTT TGC GTT TAC ATG GTT TCA TCA ATG TCC
AMS29	310	AAG (AAAG)2 GGATA (GAA)3 AAGAAAGAGAAGAAAGAA (CAA)2 (CA)2	CAT CAG AAA ATC GCA TCA C TTG AAA CTT GGA AGG TTG TC
AMS30	342	(CA)8 CG (CA)22 (TA)4	CAC TAA TGG GGT AAA TAA TGT TCT AC TTG CCT TGA AAT CCA GAC

^a Two allele sizes are given when different attempts for primer design were undertaken at the respective locus. Primers desenvolvidos por Fischer e Bachmann (2000).

