

# Genética e Melhoramento de Plantas e Animais

Magnólia de Araújo Campos  
Rafael Trindade Maia  
(Organizadores)

 **Atena**  
Editora

Ano 2019



# Genética e Melhoramento de Plantas e Animais

Magnólia de Araújo Campos  
Rafael Trindade Maia  
(Organizadores)

 **Atena**  
Editora

Ano 2019



2019 by Atena Editora  
Copyright © Atena Editora  
Copyright do Texto © 2019 Os Autores  
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora  
Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira  
Diagramação: Geraldo Alves  
Edição de Arte: Lorena Prestes  
Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Faria – Universidade Estácio de Sá  
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima  
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie di Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste  
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia  
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto  
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí  
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
G328	Genética e melhoramento de plantas e animais [recurso eletrônico] / Organizadores Magnólia de Araújo Campos, Rafael Trindade Maia. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019.  Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web. Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-719-2 DOI 10.22533/at.ed.192191710  1. Animais – Melhoramento genético. 2. Genética. 3. Plantas – Melhoramento genético. I. Campos, Magnólia de Araújo. II. Maia, Rafael Trindade.  CDD 575
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

A área de melhoramento genético é um sub-ramo da genética que visa identificar, aperfeiçoar, selecionar, preservar e utilizar características de interesse produtivo e comercial em plantas e animais. Selecionar genótipos e fenótipos de interesse nos variados organismos vem sendo feito desde o início da agricultura e da pecuária, nos primórdios da civilização, através de seleção artificial.

Atualmente, a área de melhoramento genético conta com inúmeras ferramentas para a seleção de características desejáveis; como marcadores morfológicos e moleculares, criopreservação, transgenia, cruzamentos e construção de germoplasmas.

A obra "**Genética e melhoramento de plantas e animais**" é composta de uma criteriosa seleção de trabalhos científicos e de revisões de literatura organizados em 10 capítulos distintos, elaborados por pesquisadores de diversas instituições que apresentam temas diversificados e relevantes. Este *e-Book* foi cuidadosamente editado para acadêmicos e estudantes de todos os níveis (graduação e pós-graduação) que apresentem interesse nesta área, no qual encontrarão informação e resultados de pesquisas de ponta.

É inegável a crescente demanda de estudos e pesquisas direcionadas ao melhoramento das espécies, especialmente em um país tido como uma das maiores potências agrícolas e pecuárias do mundo. O futuro do melhoramento genético é fascinante e extremamente promissor no Brasil e no mundo, e certamente será uma das forças motrizes da produção animal e vegetal e do desenvolvimento científico, tecnológico e humano.

Magnólia de Araújo Campos  
Rafael Trindade Maia

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 .....</b>	<b>1</b>
AVALIAÇÃO DO ÍNDICE MEIÓTICO, VIABILIDADE E CARACTERIZAÇÃO POLÍNICA DE <i>Theobroma grandiflorum</i> (WILLD. EX SPRENG.) K. SCHUM	
Uéliton Alves de Oliveira Alex Souza Rodrigues Elisa dos Santos Cardoso Kelli Évelin Müller Zortéa Edimilson Leonardo Ferreira Talles de Oliveira Santos Ana Aparecida Bandini Rossi	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1921917101</b>	
<b>CAPÍTULO 2 .....</b>	<b>12</b>
CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, CITOGENÉTICA E MOLECULAR DE TRIGO COMO SUBSÍDIO AO MELHORAMENTO GENÉTICO, REGISTRO E PROTEÇÃO DE CULTIVARES	
Gabrieli Scariot Sandra Patussi Brammer Pedro Luiz Scheeren Ricardo Lima de Castro Simone Meredith Scheffer-Basso	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1921917102</b>	
<b>CAPÍTULO 3 .....</b>	<b>23</b>
CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA EM ESPIGAS DE POPULAÇÕES DE MILHO CRIOULO CULTIVADAS NA REGIÃO NORTE DO RIO GRANDE DO SUL	
Ariel Rizzardo Bianca Oliveira Machado Cristina Slaviero Marcos Gatti Slaviero Karina da Silva Noryam Bervian Bispo	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1921917103</b>	
<b>CAPÍTULO 4 .....</b>	<b>30</b>
VARIABILIDADE DOS GENÓTIPOS DE MILHO DA ZONA DE TRANSIÇÃO AMAZÔNIA-CERRADO	
Lucas Carneiro Maciel Weder Ferreira dos Santos Rafael Marcelino da Silva Layanni Ferreira Sodré Laura Carneiro Silva Zildiney Dantas da Silva Jefferson da Silva Pereira Fernando Assis de Assunção Benício Lourenço Duarte Júnior	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1921917104</b>	

**CAPÍTULO 5 ..... 39**

**DESEMPENHO AGRONÔMICO E DIVERGÊNCIA GENÉTICA EM MILHO NO ECÓTONO CERRADO-AMAZÔNIA**

Rafael Marcelino da Silva  
Weder Ferreira dos Santos  
Layanni Ferreira Sodré  
Adriano Silveira Barbosa  
Laina Pires Rosa  
Lucas Carneiro Maciel  
Igor Moraes dos Reis  
Eduardo Tranqueira da Silva  
Matheus Rodrigues de Andrade

**DOI 10.22533/at.ed.1921917105**

**CAPÍTULO 6 ..... 50**

**SELEÇÃO DE HÍBRIDOS DE MILHO SUMETIDOS A DEFICIT HÍDRICO NO ESTÁGIO V4**

Luiz Augusto Salles das Neves  
Kelen Haygert Lencina  
Raquel Stefanello

**DOI 10.22533/at.ed.1921917106**

**CAPÍTULO 7 ..... 59**

**BENEFÍCIOS DO SILÍCIO COMO ATENUADOR DE ESTRESSES NAS PLANTAS**

Cândido Ferreira de Oliveira Neto  
Glauco André dos Santos Nogueira  
Luma Castro de Souza  
Luciana Ingrid Souza de Sousa  
Andressa Pinheiro de Paiva

**DOI 10.22533/at.ed.1921917107**

**CAPÍTULO 8 ..... 71**

**MINIRREVISÃO: CRIOPRESERVAÇÃO DE GAMETAS**

Renan Rhonalty Rocha  
Maria Vitória Laurindo  
Antonio Erivelton Passos Fontenele  
Camilla Rodrigues Pinho  
Sílvia Helena Tomás  
Bárbara Mônica Lopes e Silva  
Antônio José Rocha

**DOI 10.22533/at.ed.1921917108**

**CAPÍTULO 9 ..... 78**

**BIOTECNOLOGIA COMO FERRAMENTA PARA O CONHECIMENTO E CONSERVAÇÃO DA FAUNA E FLORA AMAZÔNICA**

Marcelo Derzi Vidal  
Elba Pereira Chaves  
Vilena Aparecida Ribeiro Silva

**DOI 10.22533/at.ed.1921917109**

<b>CAPÍTULO 10</b> .....	<b>88</b>
--------------------------	-----------

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE SEIS RAÇAS CAPRINAS BRASILEIRAS**

Bruna Lima Barbosa  
Vanessa dos Santos Neri  
Abigail Araújo de Carvalho  
Débora Araújo de Carvalho  
Eliene Pereira de Oliveira  
Artur Oliveira Rocha  
José Lindenberg Rocha Sarmiento  
Fábio Barros Britto  
Max Brandão de Oliveira  
Soraya Sara Viana Castro  
Maria Ivamara Soares Macedo

**DOI 10.22533/at.ed.19219171010**

<b>SOBRE OS ORGANIZADORES</b> .....	<b>97</b>
-------------------------------------	-----------

<b>ÍNDICE REMISSIVO</b> .....	<b>98</b>
-------------------------------	-----------

## AVALIAÇÃO DO ÍNDICE MEIÓTICO, VIABILIDADE E CARACTERIZAÇÃO POLÍNICA DE *Theobroma grandiflorum* (WILLD. EX SPRENG.) K. SCHUM

### **Uéilton Alves de Oliveira**

Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal -  
LMGV

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy  
Ribeiro - UENF

Campos dos Goytacazes - RJ

### **Alex Souza Rodrigues**

Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal -  
LMGV

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy  
Ribeiro - UENF

Campos dos Goytacazes - RJ

### **Elisa dos Santos Cardoso**

Laboratório de Genética Vegetal e Biologia  
Molecular

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos  
Alberto Reyes Maldonado – UNEMAT, Alta  
Floresta – MT

### **Kelli Évelin Müller Zortéa**

Laboratório de Genética Vegetal e Biologia  
Molecular

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos  
Alberto Reyes Maldonado – UNEMAT, Alta  
Floresta – MT

### **Edimilson Leonardo Ferreira**

Laboratório de Genética Vegetal e Biologia  
Molecular

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos  
Alberto Reyes Maldonado – UNEMAT, Alta  
Floresta – MT

### **Talles de Oliveira Santos**

Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal -

LMGV

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy  
Ribeiro - UENF

Campos dos Goytacazes - RJ

### **Ana Aparecida Bandini Rossi**

Laboratório de Genética Vegetal e Biologia  
Molecular

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos  
Alberto Reyes Maldonado – UNEMAT, Alta  
Floresta – MT

**RESUMO:** *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K. Schum (cupuaçuzeiro) é uma espécie frutífera nativa da Amazônia de grande importância para agricultura familiar no norte do Brasil, especialmente pela comercialização da polpa e semente de seus frutos. Objetivou-se, com esta pesquisa, avaliar os aspectos reprodutivos de *T. grandiflorum* por meio do índice meiótico, da citoquímica, viabilidade e morfologia polínica. Foram coletados botões florais em pré-antese de cinco indivíduos e fixados em solução de álcool absoluto: ácido acético (3:1) por 24 horas e armazenados em álcool 70% até posterior uso. O índice meiótico (IM), foi estimado pela contagem de produtos pós-meióticos. A análise da viabilidade polínica foi realizada pelo método colorimétrico, utilizando o corante reativo de Alexander. Para a citoquímica, foram utilizados os corantes sudan IV e lugol 2%, que coram lipídios e

amido, respectivamente. Para a caracterização polínica utilizou-se o método de acetólise sendo as avaliações realizadas em 25 grãos de pólen fotografados em vista polar e equatorial. Os resultados indicam que a espécie possui índice meiótico alto, com média de 96,45%. A porcentagem de viabilidade polínica foi superior a 95% para os cinco indivíduos avaliados. O grão de pólen de *T. grandiflorum* foi caracterizado como pequeno, oblato esferoidal, 3-colporados com exina reticulada. *T. grandiflorum* apresenta regularidade meiótica, refletida na alta viabilidade polínica e apresenta amido como material de reserva nos grãos de pólen. Esses resultados serão úteis no estabelecimento e manutenção de cultivos comerciais e programas de melhoramento da espécie, bem como auxiliarão futuros estudos palinológicos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Aspectos reprodutivos; Caracterização polínica; Cupuaçuzeiro.

## EVALUATION OF THE MEIOTIC INDEX, FEASIBILITY AND POLLEN CHARACTERIZATION OF *Theobroma grandiflorum* (WILLD. EX SPRENG.) K. SCHUM

**ABSTRACT:** *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K. Schum (cupuaçuzeiro) is a native Amazonian fruit species of great importance for family farming in northern Brazil, especially for the commercialization of the pulp and seed of its fruits. The objective of this research was to evaluate the reproductive aspects of *T. grandiflorum* using the meiotic index, cytochemistry, viability and pollen morphology. Pre-anthesis flower buds were collected from five individuals and fixed in absolute alcohol: acetic acid (3: 1) solution for 24 hours and stored in 70% alcohol until further use. The meiotic index (MI) was estimated by counting post-meiotic products. Pollen viability analysis was performed by colorimetric method using Alexander reactive dye. For cytochemistry, sudan IV and lugol 2% dyes were used, which stain lipids and starch, respectively. For pollen characterization the acetolysis method was used and the evaluations were performed on 25 pollen grains photographed in polar and equatorial view. The results indicate that the species has a high meiotic index, with an average of 96.45%. The pollen viability percentage was higher than 95% for the five evaluated individuals. The pollen grain of *T. grandiflorum* was characterized as small, spheroidal oblate, 3-colporated with reticulated exine. *T. grandiflorum* presents meiotic regularity, reflected in the high pollen viability and presents starch as a reserve material in pollen grains. These results will be useful in establishing and maintaining commercial crops and breeding programs, as well as assisting future palynological studies.

**KEYWORDS:** Reproductive aspects; Pollen characterization; Cupuaçuzeiro.

## 1 | INTRODUÇÃO

A família Malvaceae, apresenta uma distribuição predominantemente pantropical e abrange cerca de 243 gêneros e 4.225 espécies (MOBOT, 2019). Nesta família, encontra-se o gênero *Theobroma*, tipicamente neotropical, representado no Brasil por 13 espécies, das quais cinco são endêmicas (FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO, 2019).

No gênero *Theobroma* destaca-se a espécie *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K. Schum. (cupuaçuzeiro), uma planta frutífera nativa da Amazônia e de grande importância para a agricultura familiar no norte do Brasil. Sua importância está relacionada à comercialização de seus frutos para fabricação de doces, sucos, geleias, sorvetes, licores, compotas, e de suas sementes, para a obtenção de chocolate de excelente qualidade, conhecido como cupulate (ALVES et al., 2007). A contínua expansão do comércio de cupuaçu tem gerado uma demanda crescente pelo produto, garantindo ao produtor a segurança de venda da produção agrícola dessa espécie (SILVA et al., 2016).

Em meio às frutas tropicais nativas da Amazônia, o cupuaçu é aquela que reúne as melhores condições de aproveitamento industrial (CHAAR, 1980), porém, em geral, um dos maiores problemas encontrados nas plantações comerciais de cupuaçu é a baixa produtividade (ALVES et al., 2008), devido ao material de plantio empregado não ser selecionado e apresentar susceptibilidade a doenças como, por exemplo, a vassoura da bruxa, causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa* (THOMAZELLA et al., 2012; NETO et al., 2015).

A baixa produtividade dessa espécie é fortemente influenciada pela redução da fertilidade devido a problemas de polinização e autocompatibilidade. A fraca conversão de flores em frutos é atribuída à presença de barreiras naturais que afetam o número de flores polinizadas (VENTURIERI, 2011).

Portanto, estudos sobre índice meiótico, viabilidade, citoquímica e morfologia dos grãos de pólen podem fornecer informações a respeito da propagação da espécie, auxiliando na escolha dos grãos de pólen viáveis, o que influencia diretamente o sucesso dos cruzamentos (CABRAL et al., 2013) e a seleção de genótipos para programas de melhoramento (HISTER et al., 2016), na conservação dos seus recursos genéticos e na elucidação de características que propiciem um melhor entendimento taxonômico e biosistemático (OLIVEIRA et al., 2018).

Diante do exposto, objetivou-se, com esta pesquisa, avaliar aspectos reprodutivos de *T. grandiflorum* por meio do índice meiótico, da citoquímica, viabilidade e morfologia polínica.

## 2 | METODOLOGIA

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular do Centro de Pesquisa e Tecnologia da Amazônia Meridional (CEPTAM) na Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Universitário de Alta Floresta, situado no norte do estado de Mato Grosso. Em agosto de 2017, flores e botões florais em pré-antese foram coletados de cinco indivíduos de *T. grandiflorum* (Figura 1A-C) localizados no perímetro urbano do município de Alta Floresta - MT. O material foi fixado em solução de álcool absoluto: ácido acético (3:1) por 24 horas, em temperatura ambiente, e logo após transferidos para álcool 70% e mantidos a 4°C até

uso posterior.

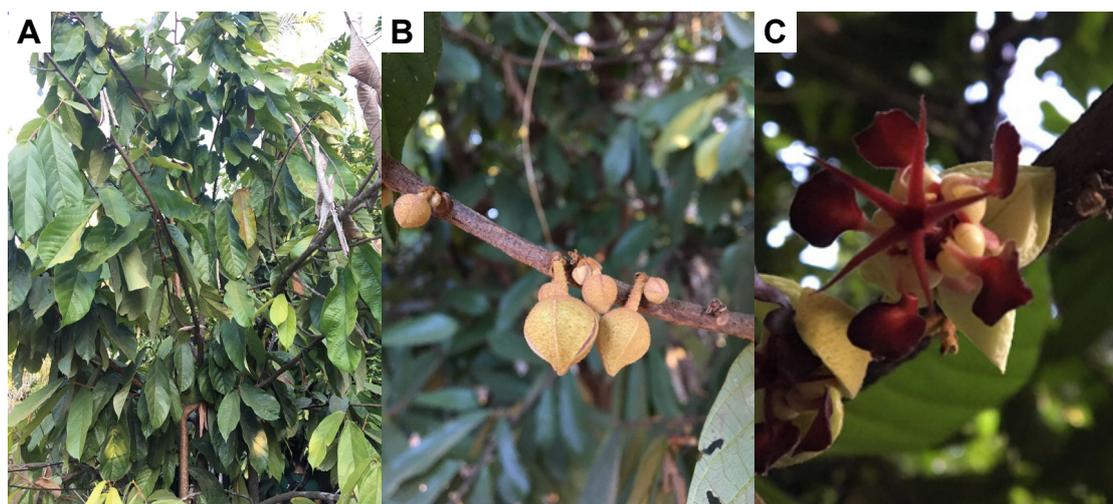


Figura 1: *Theobroma grandiflorum*. A: Indivíduo adulto; B: Botões florais em pré-antese; C: Antese.

## 2.1 Índice meiótico

Para a estimativa do índice meiótico (IM) foi utilizado um mix com botões florais em pré-antese (Figura 1B) de todos os indivíduos. Para observação das células em pós-meiose foram preparadas oito lâminas utilizando a técnica de esmagamento da antera sobre a lâmina (GUERRA; SOUZA, 2000) e o material foi corado comorceina acética 2%. O tamanho dos botões florais foi mensurado em (mm), com auxílio de paquímetro digital de precisão Mitutoyo, a fim de correlacionar o tamanho dos mesmos com a fase de desenvolvimento do gameta masculino.

Sob microscopia óptica, com aumento de 400x, foram contabilizadas 2000 células, 250 por lâmina, sendo que as tétrades com células de mesmo tamanho foram consideradas produtos pós-meióticos normais e mônades, díades, tríades e políades foram consideradas produtos pós-meióticos anormais. O índice meiótico foi estimado pela fórmula proposta por Love (1949) (1):

$$IM (\%) = \left( \frac{T}{N} \right) \times 100 \quad (1)$$

onde T é o número de tétrades normais e N o número total de produtos pós-meióticos contabilizados.

## 2.2 Viabilidade polínica e citoquímica

Para estimar a viabilidade polínica foi utilizado reativo de Alexander e botões florais em pré-antese de cinco indivíduos. Foram confeccionadas oito lâminas por indivíduo, sendo contabilizados, sob microscopia óptica em aumento de 400x, 250 grãos de pólen por lâmina, perfazendo um total de 2000 por indivíduo. As lâminas foram preparadas utilizando a técnica descrita por GUERRA e SOUZA (2000) e a

observação foi realizada pelo método de varredura. A viabilidade polínica foi estimada por meio da porcentagem de grãos de pólen viáveis obtidos pela equação (2):

$$\text{Viabilidade do pólen (\%)} = \left( \frac{n^{\circ} \text{ de grãos corados}}{n^{\circ} \text{ de grãos contados}} \right) \times 100 \quad (2)$$

Os resultados da viabilidade polínica tiveram sua significância determinada por meio do teste F e as médias foram comparadas pelo teste Tukey, em nível de 5% de probabilidade, para comparação entre os indivíduos. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa Genes (CRUZ et al., 2013).

Para avaliar a presença de substâncias de reserva dos grãos de pólen, foram empregadas técnicas citoquímicas de acordo com Baker e Baker (1979), com o corante lugol 2% utilizado para identificação de amido e o sudan IV para identificação de lipídios, sendo os grãos de pólen classificados como positivo ou negativo para estas substâncias. Foi utilizado um mix com botões florais, em pré-antese, dos cinco indivíduos, sendo contabilizados, sob microscopia óptica em aumento de 400x, 250 grãos de pólen por lâmina, perfazendo um total de 2000 para cada corante.

### 2.3 Morfologia dos grãos de pólen

Para analisar morfologia polínica, as anteras dos botões florais foram submetidas ao método de acetólise (ERDTMAN, 1943) com algumas modificações: aumento da temperatura do banho-maria de 70 a 80 °C para 100 °C por cinco minutos e aumento do tempo de exposição à mistura de glicerina e água destilada de dez minutos para duas horas, sem a retirada da solução antes do preparo das lâminas.

As lâminas foram preparadas e fotografadas no mesmo dia, para evitar o intumescimento dos grãos de pólen. As lâminas foram observadas em microscópio óptico binocular Biocam com magnitude de 400x e 1000x. As imagens foram obtidas por câmera CMOS 1.3 acoplada ao microscópio e com auxílio do sistema de captura de imagens Tsview 7. Foram mensurados o diâmetro polar e equatorial em vista equatorial (grão de pólen perpendicular à vista polar), o diâmetro equatorial em vista polar (grão de pólen com a área polar voltada para o observador) dos grãos de pólen, a espessura da exina e do apocolpo. As mensurações foram realizadas em 25 grãos de pólen tomados ao acaso com auxílio do programa Anati Quanti 2<sup>®</sup> UFV (AGUIAR et al., 2007). Os cálculos de média aritmética ( $\bar{x}$ ), o desvio padrão da média ( $s_x$ ), o coeficiente de variabilidade (V) e o intervalo de confiança (IC) a 95% foram realizadas através do programa Genes (CRUZ, 2013).

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os produtos pós-meióticos utilizados para o cálculo do IM foram encontrados nos botões florais que apresentaram tamanhos entre 4,51 e 5,73 mm, com uma média de 5,39 mm. A porcentagem média do IM foi de 96,45% (Tabela 1). De acordo

com Love (1949), plantas com IM acima de 90% são consideradas citologicamente estáveis e satisfatórias para programas de melhoramento. Pode-se inferir, portanto, que a espécie avaliada possui produção normal de gametas masculinos, embora também tenham sido observados produtos pós-meióticos anormais, mônade e tríade (Figura 2).

Lâminas	CBF (mm)	Mônade	Tríade	Tétrade	IM %
1	4,51	4	10	236	94,4
2	5,42	1	12	237	94,8
3	5,64	5	3	242	96,8
4	5,58	1	4	245	98,0
5	5,30	-	8	242	96,8
6	5,41	-	5	245	98,0
7	5,50	-	10	240	96,0
8	5,73	-	8	242	96,8
<b>Médias</b>	<b>5,39</b>	<b>1,37</b>	<b>7,5</b>	<b>241,12</b>	<b>96,45</b>

Tabela1. Produtos pós-meióticos e Índice Meiótico (IM) de cinco indivíduos de *Theobroma grandiflorum*.

CBF (mm): Comprimento do botão floral em milímetros.

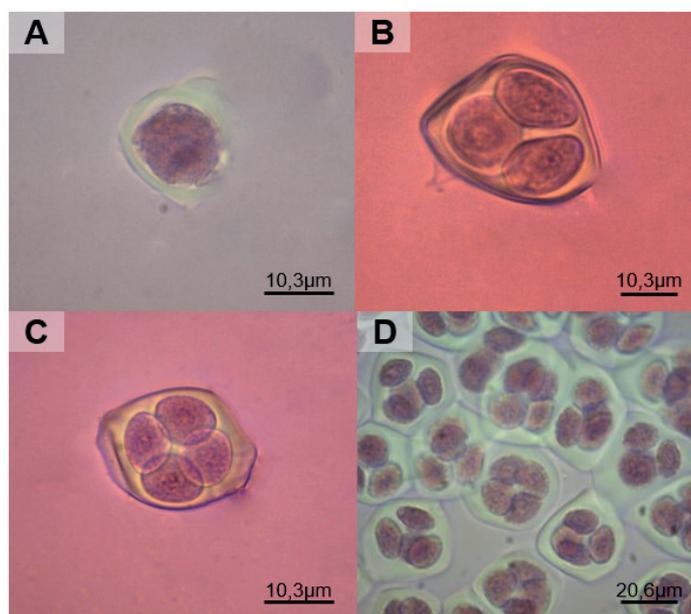


Figura 2. Produtos pós-meióticos de *Theobroma grandiflorum*. A: Mônade; B: Tríade; C: Tétrade e D: Campo com um conjunto de tétrades.

Os botões utilizados para preparação das lâminas de viabilidade polínica e citoquímica mediam entre 9,69 e 15,68 mm, com uma média de 12,27 mm. Os corantes utilizados para avaliação da viabilidade e citoquímica dos grãos de pólen foram eficazes para distinção dos polens viáveis e inviáveis (Figura 3A) e para a

determinação do conteúdo de reserva (Figura 3B e 3C).

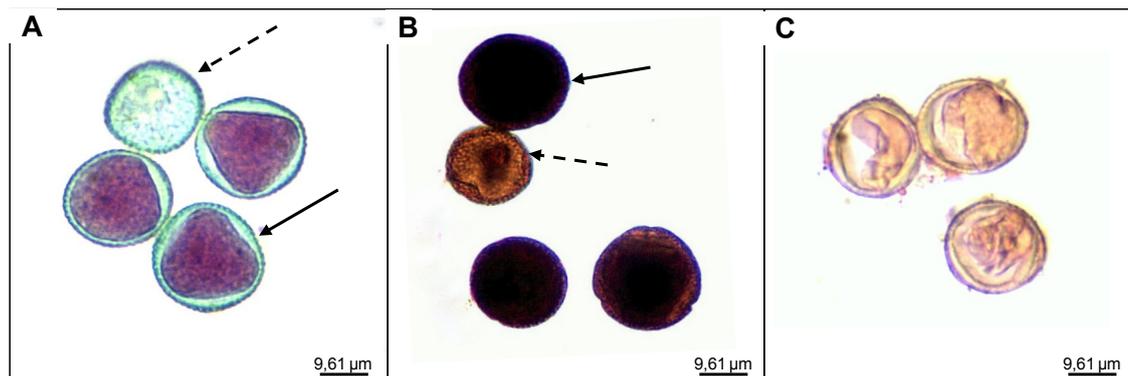


Figura 3. Grãos de pólen de *Theobroma grandiflorum*. A: Reativo de Alexander (seta contínua: polens viáveis; seta pontilhada: polens inviáveis); B: Lugol (seta contínua: amido-positivo e seta pontilhada: amido-negativo) e C: Sudan IV (lipídio-negativo).

Para o reativo de Alexander foram considerados grãos de pólen viáveis aqueles sem deformidades e com interior corado de púrpura e a parede de verde, enquanto grãos de pólen inviáveis apresentavam aspecto vazio, somente com coloração esverdeada (Figura 3A). Análises utilizando o reativo de Alexander para estimativa da viabilidade polínica fornecem dados acurados, pois se obtém uma coloração diferencial dos polens viáveis e não viáveis, devido à utilização simultânea de verde malaquita e fucsina ácida, os quais apresentam dupla coloração. O verde malaquita tem afinidade pela celulose presente na parede celular, corando-a de verde, enquanto que o protoplasma é corado pela fucsina ácida, de modo que, por não apresentarem protoplasma, os grãos de pólen abortados coram-se de verde (ALEXANDER, 1980).

A taxa de viabilidade polínica para a espécie apresentou média de 98,23%, sem diferenças estatísticas entre os indivíduos (Tabela 2).

Indivíduos	Reativo de Alexander
AF01	97,45
AF02	98,10
AF03	98,45
AF04	98,13
AF05	99,00
<b>CV%</b>	<b>1,61</b>

Tabela 2. Porcentagem da viabilidade dos grãos de pólen de *Theobroma grandiflorum*.

Segundo Souza et al. (2002), valores de viabilidade polínica acima de 70% são considerados altos, de modo que os resultados obtidos nesse trabalho, indicam que os indivíduos estudados apresentam alta quantidade de polens viáveis. Resultados semelhantes foram encontrados em estudos com espécies do mesmo gênero, *Theobroma cacao* e *Theobroma subincanum*, realizados por Cabral et al. (2013) e Arenas-de-Souza et al. (2016), respectivamente, onde a viabilidade foi superior a 90%.

Os resultados da viabilidade polínica são concordantes com os resultados do índice meiótico, demonstrando que os indivíduos avaliados possuem regularidade meiótica, expressa na alta porcentagem de grãos de pólen viáveis. Esse resultado é um indicativo de que a formação dos gametas não influencia na baixa a produtividade da espécie, descrita por alguns autores (FALCÃO E LLERAS, 1983; VENTURIERI, 2011).

As análises colorimétricas realizadas com os corantes lugol e sudan IV revelaram que os grãos de pólen de *T. grandiflorum* apresentam amido como substância de reserva (Figura 3B) e que o lipídio está ausente, uma vez que os grãos de pólen submetidos ao sudan IV não coraram (Figura 3C).

A presença de amido no pólen é uma adaptação para evitar a ação de insetos não polinizadores que se alimentam de pólen, além de ser importante na manutenção viabilidade do grão de pólen, pois o amido é total ou parcialmente convertido em glicose, frutose, sacarose e pectinas que aumentam a sua resistência em ambientes hostis, bem como auxiliam na germinação do tubo polínico (BAKER; BAKER, 1979; RODRÍGUEZ-GARCÍA et al., 2003; PACINI et al., 2006).

Os grãos de pólen de *T. grandiflorum* possuem área polar muito grande (abertura muito curta), são pequenos, apresentam formato oblato esferoidal (subesferoidal), são 3-colporados e apresentam exina reticulada (Tabela 3 e Figura 4).

Medidas	Mín. – Máx. (µm)	$x \pm sx$ (µm)	IC 95% (µm)	CV (%)
Diâmetro Equatorial (VE)	44,10 – 54,80	48,73 ± 2,87	47,46 – 49,88	5,87
Eixo Polar (VE)	34,27 – 50,15	43,96 ± 3,79	42,28 – 45,48	8,61
Razão P/E	0,75 – 0,96	0,90 ± 0,05	0,88 – 0,92	5,65
Diâmetro Equatorial (VP)	26,23 – 49,08	38,45 ± 4,76	36,34 – 40,36	12,39
Apocolpo	23,89 – 42,47	30,14 ± 4,22	28,27 – 31,83	14,00
I.A.P	0,70 – 1,43	0,79 ± 0,15	0,73 – 0,85	18,77
Exina	3,18 – 4,19	3,55 ± 0,26	3,44 – 3,65	7,25

Tabela 3. Medidas dos pólenes de *Theobroma grandiflorum* submetidos ao método de acetólise.

x = média; sx = desvio padrão da média; IC = intervalo de confiança; CV (%) = coeficiente de variação; VE = Vista Equatorial; VP = Vista Polar; P/E = Razão entre eixo polar sobre diâmetro equatorial; I.A.P.= Índice de área polar.



Figura 4. Morfologia do pólen de *Theobroma grandiflorum* A: Detalhe da exina reticulada (ornamentação); B: Vista polar com detalhe das aberturas dos colpos; C: Vista equatorial com detalhe dos colpos.

A caracterização dos grãos de pólen de *T. grandiflorum* obtidos neste estudo estão de acordo com estudo realizado por Saba (2007) com os grãos de pólen de outras duas espécies do gênero, *T. cacao* L. e *T. subincanum* Mart, caracterizando-os como pequenos, oblato-esferoidais a subprolatos e 3-colporados.

De acordo com Oliveira e Pierre (2018), algumas características morfológicas dos grãos de pólen estão associadas ao tipo de polinização. Nos indivíduos de *T. grandiflorum* avaliados, a ornamentação reticulada da exina pode suprir a falta de lipídios nos grãos de pólen, uma vez que a mesma também auxilia na aderência durante o transporte feito por polinizadores e do grão de pólen ao estigma.

#### 4 | CONCLUSÃO

A espécie *T. grandiflorum* apresenta regularidade meiótica, confirmada pelo alto índice meiótico e alta viabilidade polínica. Os grãos de pólen apresentam amido como substância de reserva e são classificados como pequenos, 3-colporados com formato oblato esferoidal e exina reticulada.

As informações obtidas neste trabalho auxiliarão na identificação da espécie, principalmente em estudos que necessitem de informações morfológicas, tais como a paleobotânica, paleoecologia e taxonomia vegetal, sendo úteis também para implantação e manutenção de cultivos comerciais e programas de melhoramento que envolvam a espécie, pois facilitam a escolha de indivíduos adequados para cruzamentos.

#### REFERÊNCIAS

AGUIAR, T. V.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; AZEVEDO, A. A.; FERREIRA, R. S. Anati quanti: software de análises quantitativas para estudos em anatomia vegetal. **Planta Daninha**, v.25, n.4, p.649-659. 2007.

ALEXANDER, M. P. A. Versatile stain for pollen fungi, yeast and bacterium. **Stain Technology**, v. 1, n. 5, p. 13-8. 1980.

- ARENAS-DE-SOUZA, M. D.; ROSSI, A. A. B.; VARELLA, T. L.; SILVEIRA, G. F. D.; SOUZA, S. A. Stigmatic receptivity and pollen viability of *Theobroma subincanum* Mart.: Fruit species from the amazon region. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, n. 4. 2016.
- ALVES, R. M.; ARTERO, A. S.; SEBBENN, A. M.; CLEMENT, C.; FIGUEIRA, A. High levels of genetic divergence and inbreeding in populations of cupuassu, *Theobroma grandiflorum*. **Tree Genetics & Genomes**, v. 3, n. 4, p. 289-298. 2007. DOI: 10.1007/s11295-006-0066-9.
- ALVES, R. M.; RESENDE, M. D. V. Genetic evaluation of individuals and progenies of *Theobroma grandiflorum* in the state of Pará and estimates of genetic parameters. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 3, p. 696-701, 2008. DOI: 10.1590/S0100-29452008000300023.
- BAKER, H. G.; BAKER. I. Starch in angiosperm pollen grains and its evolutionary significance. **American Journal of Botany**, v. 66, p. 591-600, 1979. DOI: 10.1002/j.1537-2197.1979.tb06262.x
- CABRAL, J. C.; ROSSI, A. A. B.; KLEIN, M. E.; VIEIRA, F. S.; GIUSTINA, L. D. Estimativa da viabilidade polínica em acessos de *Theobroma cacao* L. baseada em testes colorimétricos. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 2780-2788, 2013.
- CHAAR, J. M. **Composição do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) e conservação de seu néctar por meios físicos e químicos**. Rio de Janeiro, Tese Mestrado - Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, 1980, 78p.
- CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013. DOI: 10.4025/actasciagron.v35i3.21251.
- ERDTMAN, G. **An introduction to pollen analysis**. Waltham, CBC, 1943. 240p.
- FALCÃO, M. A.; LLERAS, E. Aspectos fenológicos, ecológicos e de produtividade do cupuaçu - *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum. **Acta Amazônica**, v. 13, p. 725-735. 1983. DOI: 10.1590/1809-439219831356725.
- FLORA DO BRASIL. Malvaceae. In: **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB156>>. Acesso em: 31 jul. 2019.
- GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos**: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto, SP: FUNPEC, 2002, 131p.
- HISTER, C. A. L.; TEDESCO, S. B. Estimativa da viabilidade polínica de araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine) através de distintos métodos de coloração. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 18, n. 1, p.135-141. 2016.
- LOVE, R. M. Estudos **citológicos preliminares de trigos rio-grandenses**. Porto Alegre: Secretaria do Estado dos Negócios da Agricultura, Indústria e Comércio, 1949. 23p.
- NETO, S. E. A.; FREDNBERG, N. T. N.; MINOSSO, S. C. C.; DHEIMY, D. S. N.; ROMEU, D. C. A. N. Condicionadores de substrato para produção orgânica de mudas de cupuaçu. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 4, p. 1083-1088, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-2945-207/14>.
- OLIVEIRA, L. B. P.; PIERRE, P. M. O. Índice meiótico e palinologia de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* DC-Myrtaceae). **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 17, n. 4, p. 481-490, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.5965/223811711732018481>.
- PACINI, E.; GUARNIERI, M.; NEPI, M. Pollen carbohydrates and water content during development, presentation, and dispersal: a short review. **Protoplasma**, v. 228, n. 1-3, p. 73, 2006.

RODRIGUEZ-RIANO, T.; DAFNI, A. A new procedure to assess pollen viability. **Sexual Plant Reproduction** v. 12, p. 241-244. 2000.

SABA, M. D. Morfologia polínica de Malvaceae: Implicações taxonômicas e filogenéticas. (2007) 203f. Tese de Doutorado. Tesis. Universidade Estadual de Feira de Santana. Bahia, 2007.

SILVA, B. M.; ROSSI, A. A. B.; DARDENGO, J. D. F. E.; ARAUJO, V. A. A. C.; ROSSI, F. S., OLIVEIRA, L. O.; CLARINDO, W. R. Diversidade genética estimada com marcadores entre sequências simples repetidas em cultivos comerciais de Cupuaçuzeiro. **Ciência Rural**, v. 46, n. 1, p. 108-113, 2016.

SOUZA, M. M.; PEREIRA, T. N. S.; MARTINS, E. R. Microsporogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *Flavicarpa* degener). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 6. p. 1209-1217, 2002.

STEVENS, P. F. (2001 onwards). **Angiosperm Phylogeny Website**. Version 12, July 2012 [and more or less continuously updated since. Disponível em: [www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/](http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/). Acesso em: 31 jul. 2019.

THOMAZELLA, D.P.T.; TEIXEIRA, P.J.L.; OLIVEIRA, H.C.; SAVIANI, E.E.; RINCONES, J.; TONI, I.M.; REIS, O.; GARCIA, O.; MEINHARDT, L.W.; SALGADO, I.; PEREIRA, G.A.G. The hemibiotrophic cacao pathogen *Moniliophthora perniciosa* depends on a mitochondrial alternative oxidase for biotrophic development. **New Phytologist**, v. 194, n. 4, p. 1025-1034, 2012. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2012.04119.x.

VENTURIERI, G. A. Flowering levels, harvest season and yields of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*). **Acta Amazônica**, v. 41, n. 1, p. 143-152. 2011. DOI: 10.1590/S0044-59672011000100017

## **SOBRE OS ORGANIZADORES**

**Profa. Dra. Magnólia de Araújo Campos** - Possui graduação em Licenciatura Plena em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual da Paraíba (1989), com Mestrado em Agronomia/Fitomelhoramento pela Universidade Federal de Pelotas (1995) e Doutorado em Ciências Biológicas/Biologia Molecular pela Universidade de Brasília (2002). Pós-Doutorado em Genômica pelo Centro de Citricultura Sylvio Moreira, IAC, Brasil. (2003-2005) e Genética Molecular e de Microorganismos pela Universidade Federal de Lavras (2005-2008). Desde maio de 2008 é Professora da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), onde coordenou a Criação e do Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos no Centro de Desenvolvimento do Semiárido (CDSA, Campus de Sumé). Atualmente desenvolve atividades no Centro de Educação e Saúde (CES, Campus Cuité), onde é Coordenadora da Criação e do Curso de Mestrado Acadêmico em Ciências Naturais e Biotecnologia do CES/UFCG. É Coordenadora do Laboratório de Biotecnologia do CES e do Grupo de Pesquisa Biotecnologia Aplicada ao Semiárido. Tem experiência em Cultura de Tecidos Vegetais, Transgenia de Plantas, Marcadores Moleculares, Bioinformática, Genômica, Expressão Heteróloga *in vitro* de Proteínas Antimicrobianas, Biologia Molecular Vegetal e de Microorganismos. É editora acadêmica da editora internacional de livros científicos IntechOpen.

**Prof. Dr. Rafael Trindade Maia** - Possui Graduação em Licenciatura Plena em Ciências Biológicas pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (2005), mestrado em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva pelo Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (2008) e doutorado em Biologia Animal pela Universidade Federal de Pernambuco (2013). Atualmente é professor do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido (CDSA) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Tem experiência com genética de populações, bioinformática, docking molecular, modelagem e dinâmica molecular de proteínas. Atua na área de ensino de ciências e biologia. Lidera os grupos de pesquisa Biologia Computacional e Teórica (BCT) e Ensino de Ciências e Biologia (ECB). É editor acadêmico do periódico Asian Journal of Biotechnology and Genetic Engineering e da editora internacional de livros científicos IntechOpen.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Amazônia 1, 3, 30, 31, 32, 39, 40, 41, 49, 59, 78, 79, 80, 81, 83, 84, 85, 87, 97

Aspectos reprodutivos 1, 2, 3

Atenuante 59

### B

Balu 50, 51, 53, 54, 55, 56

Biodiversidade 38, 48, 78, 79, 80, 82, 84, 85, 87

Biometria 30, 37

Biotécnica 71

Biotecnologia 22, 30, 39, 71, 78, 79, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 97

### C

Caprinos nativos 88, 89, 90, 91, 92

Caracteres 13, 14, 15, 16, 17, 18, 23, 24, 25, 26, 28, 35, 43, 46, 53, 57

Caracterização polínica 1, 2

Conservação 3, 10, 25, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 89, 90, 91, 94, 95, 97

Criopreservação de gametas 71, 72, 82

Cupuaçuzeiro 1, 2, 3, 11, 85

### D

Déficit hídrico 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 64

Descritores morfológicos 12, 13

Distância genética 12, 13, 14, 15, 16, 18, 20, 31, 34, 45

Divergência genética 15, 17, 30, 31, 32, 33, 36, 37, 38, 39, 41, 42, 44, 46, 47, 48, 49

Down 50, 51, 53, 54, 55, 56

### E

Estresse 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 62, 63, 64, 65, 67, 73

Estresse hídrico 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 64, 65

### G

Gestação assistida 71

### H

Híbridos 25, 29, 30, 31, 32, 34, 36, 41, 46, 47, 49, 50, 52, 53, 54, 56

### I

Índice meiótico 1, 2, 3, 4, 6, 8, 9, 10

## L

Landraces 24

## M

Mahalanobis 15, 30, 31, 33, 34, 35, 36, 37, 39, 40, 42, 45, 46, 48

Melhoramento de plantas 23, 24, 32, 84, 85

Microssatélites 12, 15, 19, 20, 81, 85, 89, 92, 94, 96

Milho 21, 23, 24, 25, 26, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 62, 66, 68

Milho crioulo 23, 25, 26, 28, 29

## N

Nitrogênio 32, 36, 38, 40, 41, 48, 49, 58, 62, 64, 66, 72, 74, 82

## P

Produtividade 3, 8, 10, 23, 25, 28, 29, 30, 31, 32, 35, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 47, 52, 53, 56, 57, 59, 62, 63, 67, 78, 85, 90

Proteção de cultivares 12, 13, 14, 21

## S

Seleção de híbrido 50

Silício 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 70

## T

Theobroma grandiflorum 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 85

Trigo 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 65, 66

Triticum aestivum 12, 13, 22

## U

Uso sustentável 78, 79

## V

Variabilidade 5, 21, 26, 28, 30, 31, 33, 36, 38, 40, 49, 81, 85, 87, 89, 91, 93, 94, 95

Variabilidade genética 21, 28, 31, 33, 38, 49, 81, 85, 87, 89, 94, 95

Viabilidade polínica 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 18, 19, 21, 22

## Z

Zea mays 24, 29, 37, 40, 58

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-719-2



9 788572 477192