

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO “Carlos Alberto Reyes
Maldonado”
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE
PLANTAS

ALTACIS JUNIOR DE OLIVEIRA

VARIABILIDADE GENÉTICA EM GENÓTIPOS DE *Carthamus*
tinctorius L. VIA MARCADOR MOLECULAR SSR

CÁCERES
MATO GROSSO – BRASIL
FEVEREIRO – 2021

ALTACIS JUNIOR DE OLIVEIRA

Variabilidade genética em genótipos de *Carthamus tinctorius* L. via marcador molecular SSR

Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO “Carlos Alberto Reyes Maldonado”, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Aparecido Barelli.

CÁCERES
MATO GROSSO – BRASIL
FEVEREIRO – 2021

OLIVEIRA, Altacis Junior de.

O48v Variabilidade Genética em Genótipos de *Carthamus Tinctorius* L. Via Marcador Molecular SSR / Altacis Junior de Oliveira - Cáceres, 2021.

50 f.; 30 cm. (ilustrações) Il. color. (sim)

Trabalho de Conclusão de Curso

(Dissertação/Mestrado) - Curso de Pós-graduação Stricto Sensu (Mestrado Acadêmico) Genética e Melhoramento de Plantas, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Multicampi, Universidade do Estado de Mato Grosso, 2021.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Aparecido Barelli.

Coorientador: Dr. Nilo Leal Sander e Dr. Rafael Felipin Azevedo

1. Cártamo. 2. SSR. 3. Melhoramento Genético. I. Altacis Junior de Oliveira. II. Variabilidade Genética em Genótipos de *Carthamus Tinctorius* L. Via Marcador Molecular SSR.

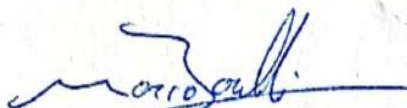
CDU 633.826

**Variabilidade genética em genótipos de *Carthamus tinctorius* L. via
marcador molecular SSR**

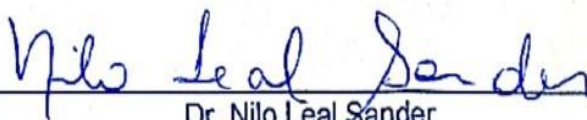
ALTACIS JUNIOR DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE
DO ESTADO DE MATO GROSSO “Carlos
Alberto Reyes Maldonado”, como parte das
exigências do Programa de Pós-Graduação em
Genética e Melhoramento de Plantas, para a
obtenção do título de Mestre.

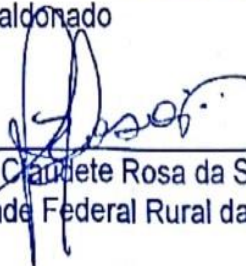
Comissão Examinadora:



Prof. Dr. Marco Antônio Aparecido Barelli
Orientador – UNEMAT- Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos
Alberto Reyes Maldonado



Dr. Nilo Leal Sander
UNEMAT - Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes
Maldonado



Profa. Dra. Claudete Rosa da Silva
UFRA - Universidade Federal Rural da Amazônia

Primeiramente a Deus, sem ele não seria possível chegar ao fim dessa caminhada;
A toda minha família, em especial aos meus pais Altacis Marques de Oliveira e Iraci
Aparecida de Oliveira;
E a todos que contribuíram de alguma forma para que eu concluísse esse mestrado.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me amparado no seu manto sagrado durante toda minha vida.

À Universidade Estadual de Mato Grosso “Carlos Alberto Reyes Maldonado” (UNEMAT), Campus de Cáceres-MT, e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, por proporcionar a oportunidade de cursar o Mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, pelo apoio e bolsa conferida.

Ao meu orientador, Marco Antonio Aparecido Barelli e ao meu coorientador Nilo Leal Sander por não medirem esforços para passar conhecimento, e por toda paciência e dedicação conferido a mim.

Aos meus pais Altacis Marques de Oliveira e Iraci Aparecida de Oliveira, que não mediram esforços para me ajudar durante esse período do mestrado, sendo meu alicerce, a minha irmã Claudia Marques, por toda paz e companheirismo oferecido a mim e aos meus tios Celso Manoel e Sebastiana Oliveira, sendo um porto seguro ao decorrer do mestrado, meu eterno agradecimento.

Ao meu primo Jeferson Marques Alves que além de primo foi um amigo me ajudando nos momentos difíceis.

Aos meus amigos do mestrado, Givanildo Rodrigues da Silva, Erika Loraine Da Silva, Jeferson Gonçalves de Jesus, Fernanda Lopes Porto, Pedro Sávio Sousa N. da Silva e Lorena Cristina Batista dos Santos, vocês foram primordiais para que eu conseguisse chegar ao fim do mestrado.

À minha amiga Taniele Carvalho de Oliveira que foi de suma importância no decorrer do mestrado, me passando muita calma e sabedoria para seguir firme com meu objetivo.

A todos meus amigos que me estenderam a mão no momento que mais precisei que foi nas análises laboratoriais, simplesmente meu muito obrigado a Andressa Alves Cabreira dos Santos, Anelise Saldanha Carneiro Pires, Claudeir Raposa Felipe e Júlio César Costa Rodrigues.

E a todos que de uma forma ou de outra me ajudaram durante esses dois anos de mestrado, meu eterno obrigado.

BIOGRAFIA

ALTACIS JUNIOR DE OLIVEIRA nasceu em 14 de dezembro de 1993 na cidade de Araputanga - MT, filho de Altacis Marques de Oliveira e Iraci Aparecida de Oliveira.

Diplomou-se em Engenharia Agrônômica, em setembro de 2017, pela Universidade do Estado de Mato Grosso “Carlos Alberto Reyes Maldonado” - UNEMAT, Campus de Cáceres, MT.

Em fevereiro de 2019, iniciou o curso de Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, na linha de pesquisa em Melhoramento Genético Vegetal, na Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT, em Cáceres, MT.

Em março de 2020 se especializou em Agricultura de Precisão pela Faculdade Venda Nova do Imigrante – FAVENI.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1. A cultura do <i>Carthamus tinctorius</i> L.	14
2.3. Variabilidade genética	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1. Caracterização da área experimental.....	21
3.2. Material experimental	21
3.3. Cultivo dos genótipos de <i>Carthamus tinctorius</i> L.	21
3.4. Extração do DNA dos genótipos de <i>Carthamus tinctorius</i> L.....	23
3.5. Amplificação e revelação dos amplicons.....	24
3.6. Análises estatísticas	26
3.6.1. Índice de similaridade de Jaccard	27
3.6.2. Métodos de agrupamento.....	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1. Diversidade genética.....	29
4.2. Análise Multivariada	32
4.3. Estrutura populacional.....	37
5. CONCLUSÕES.....	40
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41

RESUMO

OLIVEIRA, Altacis Junior de, M.Sc., UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO “Carlos Alberto Reyes Maldonado”, Janeiro de 2021, **Variabilidade genética em genótipos de *Carthamus tinctorius* L. via marcador molecular SSR**. Professor Orientador: Dr. Marco Antonio Aparecido Barelli, Professores Conselheiros: Dr. Nilo Leal Sander e Dr. Rafael Felipin Azevedo

O *Carthamus tinctorius* L. é uma oleaginosa pertencente à família Asteraceae, cuja matéria-prima se destina a diversos fins. A cultura tem atraído a atenção de pesquisadores e indústrias pela qualidade e quantidade de óleo produzido, o que torna importante a realização de estudos, principalmente quanto ao melhoramento genético, para auxiliar na seleção de genótipos superiores. Neste sentido, a avaliação da variabilidade genética com o uso de marcadores é uma etapa primordial para exploração dos recursos genéticos para o programa de melhoramento da cultura. Diante disso, O presente estudo teve a finalidade de estimar a variabilidade genética de genótipos de cártamo via marcadores moleculares *Simple Sequence Repetition* (SSR). O estudo foi conduzido na Universidade Estadual de Mato Grosso “Carlos Alberto Reyes Maldonado”, Campus de Cáceres-MT, onde foram avaliados 121 genótipos de cártamo da coleção de Germoplasma, utilizando 21 marcadores SSR. A diversidade genética foi estimada por meio de número de alelos, heterozigosidade média observada (H_o), heterozigosidade média esperada (H_e) e coeficiente de endogamia (F). Utilizou-se o Índice Jaccard para a obtenção da matriz de similaridade, e os agrupamentos dos genótipos foram realizados pelos métodos de Otimização de Tocher modificado e Hierárquico de UPGMA com auxílio do programa GENES. Os dados moleculares ainda foram submetidos à análise de estruturação genética, empregando-se o método Bayesiano. O número de alelos detectados entre os genótipos considerando os 21 loci foi de 158, a H_e pode ser considerada alta, variando de 0,551 a 0,804, já a heterozigosidade observada (H_o) foi baixa, variando de 0,000 a 0,502, e índices de coeficiente de endogamia (F) foram positivos em todos os locus e em todas as populações, possuindo uma média geral de 0,958. Os valores de medida de diferenciação genética (F_{ST}) entre as populações foram encontrados baixos em média de 0,010, sugerindo baixa estrutura populacional. O agrupamento realizado pelo método de Tocher modificado permitiu a alocação dos genótipos em 19 grupos, e o agrupamento pelo método hierárquico de UPGMA possibilitou alocar os genótipos em 15 grupos distintos. A análise de estruturação populacional demonstrou haver presença de duas populações entre os genótipos avaliados, com poucas introgressões gênicas. Os métodos de agrupamento promoveram agrupamentos parcialmente semelhantes e a diversidade genética dos genótipos avaliados demonstraram que a distribuição geográfica, neste estudo, não está relacionada com a distância genética dos genótipos. Com isso, conclui-se que os genótipos de *Carthamus tinctorius* L. apresentaram variabilidade genética, sendo possível explorar esta variabilidade em programas de melhoramento genético.

Palavras-Chave: Cártamo; SSR; Melhoramento Genético.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Altacis Junior de, M.Sc., STATE UNIVERSITY OF MATO GROSSO "Carlos Alberto Reyes Maldonado", January 2021, **Genetic variability in genotypes of *Carthamus tinctorius* L. via molecular marker SSR**. Adviser: Professor: Dr. Marco Antonio Aparecido Barelli, Advisor Professors: Dr. Nilo Leal Sander and Dr. Rafael Felipin Azevedo

Carthamus tinctorius L. is an oil plant belonging to the Asteraceae family, whose raw material is intended for various purposes. The crop has attracted the attention of researchers and industries due to the oil quality and quantity produced, which makes it important to carry out studies, mainly regarding breeding, to help the selection of superior genotypes. In this sense, the evaluation of genetic variability with the use of molecular markers is an essential step for the genetic resources exploitation to safflower breeding programs. In view of this, the present study aimed to estimate the genetic variability of safflower genotypes by Simple Sequence Repetition (SSR) molecular markers. The study was conducted at the State University of Mato Grosso "Carlos Alberto Reyes Maldonado", Campus of Cáceres-MT, where 121 safflower genotypes from the Germplasm collection were evaluated using 21 SSR markers. Genetic diversity was estimated through the number of alleles, observed average heterozygosity (H_o), expected average heterozygosity (H_e) and inbreeding coefficient (F). The Jaccard Index was used to obtain the similarity matrix, and the genotypes were grouped using the modified Tocher's Optimization and UPGMA Hierarchical methods using the GENES program. Molecular data were also subjected to genetic structuring analysis, using the Bayesian's method. The number of alleles detected among the genotypes considering the 21 loci was 158, H_e can be considered high, varying from 0.551 to 0.804, whereas the observed heterozygosity (H_o) was low, varying from 0.000 to 0.502, and coefficient indices of inbreeding (F) were positive in all loci, and in all populations, with an overall average of 0.958. Measure values of genetic differentiation (F_{ST}) between populations were found low on average of 0.010, suggesting low population structure. The grouping performed by the modified Tocher method allowed the allocation of genotypes in 19 groups, and the grouping by the UPGMA's hierarchical method made possible to divide the genotypes into 15 distinct groups. The grouping methods promoted partially similar clusters and the genotypes genetic diversity evaluated demonstrated that the geographic distribution, in this study, was not related to the genetic distance of the genotypes. With this, it is concluded that the genotypes of *Carthamus tinctorius* L. presented genetic variability, being possible to explore this variability in genetic improvement programs.

Key words: Safflower; SSR; Genetic improvement.

1. INTRODUÇÃO

A cultura do *Carthamus tinctorius* L. é uma das mais antigas do mundo, com relatos de seu cultivo e utilização a mais de 4.000 anos (Moura et al., 2015). É uma oleaginosa pertencente à família Asteraceae, cuja matéria-prima é destinada para produção de óleo na alimentação humana e na indústria para diversos fins (Queiroga et al., 2020), bem como na produção de lubrificantes, biocombustíveis, sabões e vernizes, óleo de cozinha e ração para animais (Golkar, 2014; Kumar et al., 2016).

O cártamo é uma das sementes oleaginosas mais importantes do mundo (Kim et al., 2016; Sharifi et al., 2017). Seu cultivo é feito em mais de 60 países, e a produção mundial no ano de 2017 foi em torno de 734 mil toneladas, em uma área cultivada de aproximadamente de 725 mil hectares, sendo que os países Turquia, México e China possuíram as maiores produtividades 1.826,00, 1.565,00 e 1.429,00 kg ha⁻¹ respectivamente (FAO, 2019).

No Brasil a cultura tem atraído a atenção de pesquisadores e indústrias por se tratar de uma oleaginosa promissora na quantidade e qualidade do seu óleo (Silveira et al., 2017; FAO, 2019). Além disso, estudos envolvendo a cultura ainda são escassos no país, principalmente do melhoramento genético, que podem ajudar na escolha e seleção de genótipos que melhor se desenvolveriam nas regiões produtoras (Singh e Nimbkar, 2016).

Nesse contexto, a avaliação da variabilidade genética com o uso de marcadores é primordial para exploração dos recursos genéticos em programas de melhoramento de plantas (Saadaoui et al., 2017). A diversidade genética pode ser avaliada usando diferentes marcadores (bioquímicos, morfológicos e moleculares), sendo que a variação genética no nível do DNA constitui uma excelente ferramenta para a obtenção de informações contidas no genoma de um indivíduo (Vieira et al., 2008; Bahmankar et al. 2017).

Uma ferramenta muito utilizada para a análise de diversidade genética são os marcadores moleculares SSR (*Simple Sequence Repeat*) que são capazes de identificar genótipos com características desejáveis para o desenvolvimento de

novas cultivares (Kiran et al., 2017). Atualmente, os marcadores moleculares SSR têm sido utilizado para estudos genéticos em cártamo e na obtenção da estrutura genética (Golkar e Mokhtari, 2018).

Estudos tem demonstrado a utilização de marcadores SSR em cártamo, como o realizado por Ambreen et al. (2015), onde avaliaram o desenvolvimento de marcadores SSR, usando 25 genótipos e 325 marcadores SSR, observaram que os novos marcadores desenvolvidos no estudo irão se somar ao repertório existente de marcadores e podendo ser usado para análise de diversidade, estudos sintéticos, construção de ligação mapas e seleção assistida por marcadores.

Kiran et al. (2017) avaliando a diversidade genética, estrutura populacional e desequilíbrio de ligação utilizando 148 genótipos de cártamo utilizando 44 marcadores SSR, obtiveram resultados de alta variação fenotípica, estrutura populacional moderada e baixo nível de desequilíbrio de ligação.

Já Bahmankar et al. (2017) em estudo desenvolvido no Irã, avaliaram e caracterizaram a diversidade genética entre 20 genótipos de cártamo com origens nativas e exóticas usando nove marcadores SSR, observaram que os genótipos foram divididos em grupos consistentes com seu país de origem, sugerindo que os marcadores SSR podem ser utilizados de forma eficiente para avaliar a diversidade genética e as relações entre os genótipos de cártamo.

Nesse contexto, a utilização de técnicas moleculares via marcadores SSR em estudos com cártamo, são necessárias para o melhoramento genético da cultura, pois auxiliam na identificação da variabilidade genética e estrutura populacional. Ambas as informações são de fundamental importância para o uso racional da diversidade genética das populações de cártamo.

Diante disso, o presente trabalho objetivou-se estimar a variabilidade genética de 121 genótipos de cártamo via marcadores moleculares SSR da coleção de Germoplasma do Laboratório de Recursos Genéticos & Biotecnologia (LRG&B) da Universidade Estadual de Mato Grosso “Carlos Alberto Reyes Maldonado” (UNEMAT), Campus de Cáceres-MT.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cultura do *Carthamus tinctorius* L.

O *Carthamus tinctorius* L. conhecido também como açafrão e açafrão bastardo é considerado uma das culturas mais antigas do mundo, os relatos de seu cultivo e utilização datam a mais de 4.000 anos (Medeiros, 2011). Sua origem é Asiática e Africana com prováveis centros de distribuição na Índia, Afeganistão e Etiópia (Moura et al., 2015). Na antiguidade era utilizado como corante extraído das flores, muito usado em alimentos e tecidos, com evidências de cultivo datadas em 1.600 a.C. no Egito (Sehgal, 2011; Britannica Academic, 2019).

No século XX, a cultura foi introduzida nas Américas nos Estados Unidos, nos Estados do Arizona, Califórnia, Nebraska e Utah (Ashri et al., 1960; Dajue et al., 1996; Silva, 2013). Devido à adaptabilidade da cultura, no ano de 1958 o cártamo passou a ser cultivado na região noroeste do México (Coronado, 2010). No Brasil seu histórico de cultivo é recente, realizado apenas por Universidades e institutos de pesquisas, visando posicionar a semeadura do cártamo na segunda safra (Silva et al., 2015).

O cártamo é uma oleaginosa autógama pertencente à família Asteraceae, gênero *Carthamus* e espécie *Carthamus tinctorius* L., é a única do gênero que possui 24 cromossomos (Gerhardt, 2014). O porte é herbáceo, caule ereto e ramificado, com altura variando entre 0,4 e 2,0 m, com sistema radicular pivotante que pode atingir até 3,0 m de profundidade (Singh e Nimbkar, 2007; Oliveira Neto, 2020).

Seu sistema radicular consegue se desenvolver bem, favorecendo a capacidade de absorção de água e nutrientes em maiores profundidades (Sajedi et al., 2012). Esse mecanismo proporciona a cultura uma característica importante, tornando está uma alternativa para o cultivo em regiões sujeitas ao estresse hídrico (Kar et al., 2007), ou para ser incluída como cultivo em período de segunda safra onde pode ocorrer veranicos.

As ramificações do caule podem ser classificadas como primárias, secundárias e terciárias, nas quais surge uma inflorescência chamada de capítulo (Britannica Academic, 2019). O capítulo é composto de 20 a 250 flores, denominada de floretes que se encontram envolvidas por diversas brácteas sobrepostas (Silva, 2013). Cada flor possui um conjunto de pétalas que circunda o gineceu e androceu (Singh e Nimbkar, 2006).

A semente do cártamo é eurispérmica, pois apresenta formato irregular com ápice achatado e base arredondada, possui coloração branca amarelada quando seca e acinzentada quando hidratada (Mündel et al., 2004; Abud et al., 2010). Os genótipos comerciais de cártamo são classificados em dois grupos conforme os seus teores e a composição do óleo presente nas sementes. O primeiro grupo chamado de oleico é definido por apresentar de 70 a 75% de ácidos graxos na sua constituição, e o segundo grupo denominado de linoleico apresentando na sua constituição acima de 70% de ácido linoleico (Gracia et al., 2010).

O ciclo varia em torno de 110 a 150 dias, que pode antecipar ou prolongar seu ciclo, dependendo do genótipo e das condições ambientais (Flemmer et al., 2015). Após a semeadura, a germinação ocorre entre três a oito dias, onde se inicia o estágio de roseta, que é caracterizado pelo crescimento lento da planta, onde diversas folhas são produzidas ao nível do solo. O material genético e as condições climáticas podem influenciar na duração desta fase, mas geralmente dura em torno de três a seis semanas. Essa é a etapa mais crítica do desenvolvimento da cultura, pois apresenta crescimento lento, que a torna bastante sensível à competição por água, luz e nutrientes com as plantas invasoras (Emongor, 2010).

A fase de desenvolvimento vegetativo ocorre de 42 a 48 dias após a emergência (DAE), obtendo a elongação do caule e as ramificações. O florescimento inicia entre 60 e 100 DAE. Esta fase é de extrema importância para a cultura, pois é quando os componentes de produção são determinados. O estágio de maturidade fisiológica está compreendido entre 102 a 148 DAE, onde ocorre a translocação de fotoassimilados do caule e folhas (fonte) para os grãos (dreno) (Montoya, 2010). Já o ponto ideal para colheita se dá entre 117 a 169 DAE, época caracterizada com as plantas completamente senescentes com coloração marrom

das folhas e capítulos e as sementes apresentando umidade em torno de 10% (Emongor, 2010; Guidorizzi, 2016).

O cártamo possui elevada capacidade de adaptação às mais diferentes condições edafoclimáticas, tem desenvolvimento adequado em altitudes situadas até 1000 metros acima do nível do mar. Toleram amplitudes de temperatura que podem variar de 5 a 40 °C (Oelke et al., 1992), com uma temperatura ótima situada entre 20 e 35 °C (Coronado, 2010). Possui pouca ou nenhuma resposta ao fotoperíodo e tem adaptação excelente em regiões com precipitações de 300 a 400 mm durante o seu ciclo de desenvolvimento. Apresenta tolerância à seca, sendo que em condições de deficiência hídrica moderada pode apresentar ligeira redução da produtividade de grãos (Hussain et al., 2015). O cultivo ainda pode ser em diferentes tipos de solo, desde que sejam profundos e possuam boa drenagem (Bagheri e Sam-Dailiri, 2011).

Sabe-se, que nas regiões sudeste e centro-oeste do Brasil, as áreas agricultáveis predominam um longo período de estiagem, normalmente na segunda quinzena de abril até o final de setembro (Coronado, 2010; Shahrokhnia et al., 2016). Nesse período, é muito arriscado a semeadura de espécies tradicionais, sendo assim, torna estas áreas alternativas para cultivar espécies como o cártamo, que é tolerante a deficiência hídrica, propiciando aos produtores opções interessantes de cultivo de entressafra (Guidorizzi, 2016; Paludo et al., 2018).

O cultivo do cártamo é feito em mais de 60 países, em 2017 a produção mundial foi em torno de 734 mil toneladas, em uma área cultivada de aproximadamente de 725 mil hectares. O país que possui maior área produtora da cultura é o Cazaquistão com aproximadamente 251 mil hectares, representando quase 35 % da área total colhida no mundo em 2017, com uma produção de aproximadamente 225 toneladas. Quando se fala em produtividade da cultura, a Turquia lidera seguida pelo México, China, Estados Unidos e Hungria, com uma produtividade média de aproximadamente 1.826,00, 1.565,00, 1.429,00, 1.408,00 e 1.286,00 kg ha⁻¹ respectivamente (FAO, 2019).

Segundo os dados da FAO (2019), o Brasil não aparece na lista como produtor de cártamo, pois ainda é pouco cultivado no país. Entretanto estudos vêm sendo realizados, principalmente pela Universidade Estadual Paulista "Júlio de

Mesquita Filho", demonstrando a aptidão para a produção do cártamo. Silva (2013) avaliando acessos de cártamo obteve produtividade média de 1.057,00 kg ha⁻¹. Zoz (2015) avaliando variedades comerciais americanas obteve produtividade de 516,00 kg ha⁻¹ em condições de restrição hídrica extrema, passando por uma estiagem de 51 dias na fase reprodutiva da cultura. Guidorizzi (2016) trabalhando com manejo e adubação obteve produtividades de até 2.119,00 kg ha⁻¹.

As sementes de cártamo apresentam teores de óleo que variam de 35 % até 45 %, sendo este óleo considerado de boa qualidade, pois pode ser usado tanto para o consumo humano quanto para o uso industrial. O mesmo possui elevados teores de ácido oleico e ácido linoleico (70 – 75 %) e a sua classificação dos cultivares é dada por grupos, conforme os teores de ácidos graxos, ou seja, existe o grupo de cártamo oleico e o grupo de cártamo linoleico (Handan et al., 2009).

Os principais derivados do cártamo destinados ao consumo humano são o óleo de cozinha e margarina, também é utilizado como suplemento nutricional, devido possuir presença majoritária dos ácidos oleicos (Ômega 9) e linoleicos (Ômega 6), que auxilia no controle do colesterol ruim, na queima de gorduras e tonificação dos músculos (Medeiros, 2011; Karami et al., 2018).

Algumas pesquisas relacionadas ao consumo do óleo de cártamo demonstraram ser benéfico à saúde, entre os benefícios descritos na literatura destacam-se a redução do peso corporal e da circunferência da cintura (CC), prevenção e tratamento de hiperlipidemia e redução das lesões ateroscleróticas, o que em conjunto resulta em prevenção de risco cardiovascular (Harris et al., 2017).

Para as indústrias, o óleo de cártamo pode ser empregado na fabricação de vários produtos como: tintas, vernizes, esmaltes, sabões, biodiesel, entre outros. A torta constituída da moagem dos grãos, subproduto obtido do processo de extração do óleo, serve como fonte proteica, possuindo mais ou menos 25 % de proteína, além da produção de biomassa, conferindo a esta cultura uma característica de forrageira de boa qualidade para produção de silagem, propícia para alimentação de ruminantes (Ekin, 2005; Arantes, 2011; Augustinho, 2013).

Esta cultura tem diferentes formas de utilização, como é o caso de alguns países da Europa que o utilizam como planta ornamental (Magalhães, 2017), em outros países é utilizada para rotação de cultura, para controlar plantas daninhas e

interromper ciclos de doenças, proporcionando uma diversificação dos sistemas de cultivo (Omidi et al., 2012).

Portanto, essa cultura apresenta-se com potencial para seu cultivo em larga escala no Brasil em função das suas características, sendo necessários ampliar os estudos tanto para manejo como para o melhoramento genético visando o desenvolvimento de cultivares adaptados as condições brasileiras.

2.3. Variabilidade genética

A variabilidade genética de uma espécie é de fundamental importância, pois ela é a base para a evolução das espécies aos variados tipos de habitats e às alterações climáticas, além de ser a base para programas de melhoramento genético. A quantificação da variabilidade genética dentro de populações pode ser efetuada a partir de medidas de diversidade genética intrapopulacional, que poderão ser estimadas a partir de dados de marcadores moleculares (Cavers et al., 2005; Saadaoui et al., 2017).

Os marcadores moleculares são quaisquer fenótipos moleculares provenientes de quaisquer segmentos expressos ou não de DNA que vem de herança genética e se prestam à diferenciação de um ou mais indivíduos (Ferreira e Grattapaglia, 1998; Milach, 1998). Esses marcadores moleculares podem ser obtidos por meio de diferentes técnicas, em que cada técnica utiliza uma estratégia particular para detectar o polimorfismo, nos quais, a diferença entre si é dada por características como a abundância no genoma, níveis de polimorfismo detectados, especificidade de locus, reprodutibilidade, requerimentos técnicos e custo (Mondini et al., 2009).

Conforme a metodologia utilizada para identificar os marcadores moleculares, pode-se classificá-los em dois grupos: o primeiro, os marcadores são obtidos por hibridização e o segundo, os marcadores são obtidos por amplificação do DNA. Entre os identificados por hibridização estão os marcadores RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) e os marcadores minissatélites. Já para os marcadores por amplificação estão o RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), SCAR (*Sequence Characterized Amplified Regions*), STS (*Sequence Tagged*

Sites), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) e SSR ou microssatélites (*Simple Sequence Repeats*) (Chies et al., 2014).

O aperfeiçoamento das técnicas utilizando marcadores por amplificação é fundamentada pela amplificação dos fragmentos de DNA, com isso, grandes avanços veem sendo alcançados na área dos marcadores de DNA, como é o caso dos marcadores de microssatélites (Padilha et al., 2003; Miah et al., 2013). Os marcadores de microssatélites são curtas regiões do DNA com não mais do que seis nucleotídeos de comprimento, repetidas em tandem ao longo do genoma (Litt e Luty, 1989; Ferreira e Gratapaglia, 1998). Por meio da reação de polimerase em cadeia (PCR) essas regiões são amplificadas, utilizando *primers* específicos (de 20 a 30 bases), complementares a sequências únicas que flanqueiam o microssatélite, assim, cada segmento amplificado de tamanho diferente representa um alelo diferente do mesmo loco (Ferreira e Gratapaglia, 1998).

As principais vantagens dos marcadores de microssatélites é de serem codominantes, bastante informativos, exigir pequena quantidade de DNA, ser de fácil utilização e reprodutibilidade, baixo custo, grande poder de resolução, e finalmente por constituírem uma das classes mais polimórficas de marcadores moleculares disponíveis hoje, diante disso, estão substituindo rapidamente outros marcadores em diversos tipos de estudos genéticos (Caixeta et al., 2006).

Alguns estudos mostram a utilidade de marcadores SSR na cultura do cártamo, Chapman et al. (2009) avaliando o desenvolvimento, polimorfismo e utilidade cruzada de táxons em 27 genótipos de cártamo por meio de 104 marcadores SSR, observaram que os marcadores representaram um recurso valioso para a análise genética de cártamo e espécies relacionadas, e teve potencial de facilitar análises comparativas baseadas em mapas em uma ampla gama de táxons dentro das Asteraceae.

Derakhshan et al. (2014) avaliando a diversidade genética e as relações de 42 genótipos de cártamo em seis espécies, *Carthamus tinctorius*, *Carthamus palaestinus*, *Carthamus oxyacanthus*, *Carthamus lanatus*, *Carthamus dentatus* e *Carthamus boissieri*, utilizando 33 marcadores SSR, onde o uso dos marcadores possibilitou identificar as relações genéticas e a diversidade entre as espécies de *Carthamus*.

Kiran et al. (2017) avaliando características agronômicas, diversidade genética e estrutura populacional em 148 genótipos de cártamo oriundos de 15 países a partir da genotipagem de 44 loci SSR, detectaram, elevada variação fenotípica, sugerindo que o subconjunto central pode ser explorado para o mapeamento da associação dos componentes de produção de sementes de cártamo.

Já Mokhtari et al. (2018) avaliando relações genéticas entre 105 genótipos de cártamo de diferentes áreas geográficas, por meio de 32 loci SSR, verificaram que os cromossomos domesticados e genótipos selvagens foram agrupados em dois grandes grupos, indicando esses marcadores como ferramenta apropriada para analisar a diversidade genética e mapeamento do genoma.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Caracterização da área experimental

O estudo foi conduzido no Laboratório de Recursos Genéticos & Biotecnologia (LRG&B) e na casa de vegetação pertencente ao LRG&B com umidade e temperatura controlada, ambos vinculados ao Departamento de Agronomia da Universidade do Estado de Mato Grosso “Carlos Alberto Reyes Maldonado” (UNEMAT), Cidade Universitária do *Campus* de Cáceres – Mato Grosso, localizada nas coordenadas “16°07’66” e “57°65’29” longitude.

3.2. Material experimental

Foram avaliados 121 genótipos de cártamo (Tabela 1), sendo que 11 não foram utilizados, devido serem de populações contendo apenas um genótipo, evitando assim, a superestimação destas informações para estes indivíduos. Portanto, as análises foram realizadas com 110 genótipos provenientes de dez populações distintas, os quais são: Bangladesh, Canadá, Cazaquistão, China, Etiópia, EUA, Índia, Irã, Paquistão e Turquia. As populações, por sua vez, pertencem a seis regiões: Ásia Meridional (Índia e Paquistão); Oriente Médio (Irã e Turquia); América do Norte (Canadá e EUA); Ásia Oriental (China e Bangladesh); Ásia Central (Cazaquistão); e África Oriental (Etiópia) e fazem parte da coleção ativa de germoplasma do Laboratório de Recursos Genéticos & Biotecnologia da Universidade Estadual de Mato Grosso “Carlos Alberto Reyes Maldonado” (UNEMAT), Campus de Cáceres-MT.

3.3. Cultivo dos genótipos de *Carthamus tinctorius* L.

Para a extração do DNA, foi feita a semeadura dos 121 genótipos de cártamo em copos plásticos de 500 ml contendo substrato comercial, onde se realizou a semeadura com duas sementes com 3 repetições para cada genótipo.

Tabela 1 – Informações de ordem (Ord.), identificação (PI), e origem dos 121 genótipos de *Carthamus tinctorius* L. avaliados

Ord.	PI	Origem	Ord.	PI	Origem	Ord.	PI	Origem	Ord.	PI	Origem
1	193473	Etiópia	33	306832	Índia	66	451956	Índia	97	572431	EUA
2	195895	Marrocos	34	306833	Índia	67	506426	China	98	572439	EUA
3	237539	Turquia	35	306838	Índia	68	508068	EUA	99	572450	EUA
4	248385	Índia	37	306866	Índia	69	514625	China	100	572464	EUA
5	248620	Paquistão	38	343783	Irã	70	525457	EUA	101	572544	Canadá
6	248808	Índia	39	343930	Etiópia	71	537658	EUA	102	576981	China
7	248828	Índia	40	367833	Argentina	72	537673	EUA	103	576985	França
8	248839	Índia	42	369845	Tajiquistão	73	537680	EUA	104	613357	EUA
9	248852	Índia	43	369849	Rússia	74	537682	EUA	105	613361	EUA
10	250083	Egito	44	369854	Uzbequistão	75	537684	EUA	106	613366	EUA
11	250188	Paquistão	45	392029	Turquia	76	537697	EUA	107	613373	EUA
12	250190	Paquistão	46	392030	Turquia	77	537712	EUA	108	613380	EUA
13	250203	Paquistão	47	392031	Turquia	78	543980	China	109	613382	EUA
14	250204	Paquistão	48	393500	Irã	79	544002	China	110	613384	EUA
15	250840	Irã	49	401474	Bangladesh	80	544013	China	111	613394	EUA
16	250922	Irã	50	401475	Bangladesh	81	544028	China	112	613404	EUA
18	253540	Hungria	51	401477	Bangladesh	82	544030	China	113	613409	EUA
19	253899	Síria	52	401480	Bangladesh	83	544031	China	114	613415	EUA
20	259996	Paquistão	53	401578	Índia	84	544036	China	115	613419	EUA
21	259997	Paquistão	54	401589	Índia	85	544038	China	116	613422	EUA
22	262443	Espanha	55	405955	Irã	86	544043	China	117	613456	EUA
23	262447	Cazaquistão	56	405961	Irã	87	560178	EUA	118	613503	EUA
24	262450	Índia	57	405965	Irã	88	532639	Índia	119	613519	Irã
25	279344	Japão	58	405970	Irã	89	568787	China	120	638543	Canadá
26	283757	Índia	59	405975	Irã	90	568792	China	121	653143	EUA
27	304438	Irã	60	406006	Irã	91	568795	China	122	653149	China
28	305161	Índia	61	406007	Irã	92	568798	China	123	653162	China
29	305198	Índia	62	406015	Irã	93	568836	China	124	251978	Turquia
30	305207	Índia	63	407606	Turquia	94	568866	China			
31	305209	Índia	64	407613	Turquia	95	568870	China			
32	305540	Cazaquistão	65	451954	Índia	96	568876	China			

A semeadura para obter amostras vegetais para extração do DNA foi realizada na casa de vegetação do LRG&B, a irrigação foi feita diariamente duas vezes ao dia até o período de coleta do tecido foliar. Procedeu-se a coleta entre oito

a dez dias após a semeadura (DAS), quando os genótipos apresentaram o segundo par de folhas verdadeiras. Para a coleta foi necessário à utilização de uma pinça para cortar as folhas de cada genótipo, ficando esse material livre de contaminação, e posteriormente acondicionadas em saquinhos de zip lock e armazenadas em ultra freezer em temperatura de -80 °C até o processo de extração do DNA.

3.4. Extração do DNA dos genótipos de *Carthamus tinctorius* L.

O processo de extração do DNA foi realizado mediante o uso do kit Wizard® Genomic DNA Purification Promega, seguindo as recomendações do fabricante. O primeiro passo foi retirar o tecido foliar do ultrafreezer para retirada de uma pequena amostra em torno de 0,05 gramas das folhas coletadas e colocadas em microtubos de 2,0 mL enumerados correspondendo cada genótipo. Logo em seguida, adicionou-se duas beats em cada microtubo.

Seguindo o kit de extração promega, adicionou-se em cada microtubo 600 µL de “*Nucleilysis Solucion*” e levado ao tissuelyser por 10 minutos para a maceração do DNA. Finalizados o tempo de maceração, retiraram-se as beats de cada microtubo e estes levados em banho-maria a 65 °C por 15 minutos. Após isso, adicionou-se três µL de RNase e os tubos foram vertidos cinco vezes delicadamente e, incubados novamente em banho-maria a 37 °C, por 15 minutos. Posteriormente deixou-se esfriar por cinco minutos em temperatura ambiente e adicionou-se 200 µL de “*Protein Precipitation Solution*” e os microtubos foram levados ao vórtex em alta velocidade por 20 segundos. Logo em seguida, colocou-se na centrifuga a 14.000 rpm com temperatura de -4 °C por cinco minutos e o sobrenadante foi transferido para novo microtubo de 1,5 ml, com 600 µL de isopropanol em temperatura ambiente, onde a solução foi misturada por inversão. Os microtubos foram ainda centrifugados a 14.000 rpm com temperatura de 22 °C por cinco minutos, o sobrenadante foi descartado e no precipitado adicionados 600 µL de etanol 70 % em temperatura ambiente. Os microtubos novamente centrifugados por 14.000 rpm por três minutos. O sobrenadante foi retirado por decantação, deixando apenas o *pellet* aderido à parede do microtubo, e para secagem do precipitado, os microtubos foram colocados vertidos sobre papel absorvente por 15 minutos.

Os DNAs precipitados foram ressuspensos com água ultrapura autoclavada e colocados na geladeira em *overnight* para serem utilizados a posteriori. A qualidade do DNA foi analisada por meio de eletroforese em gel de agarose a 1,0 % (Figura 1), demonstrando uma ótima extração dos DNAs.

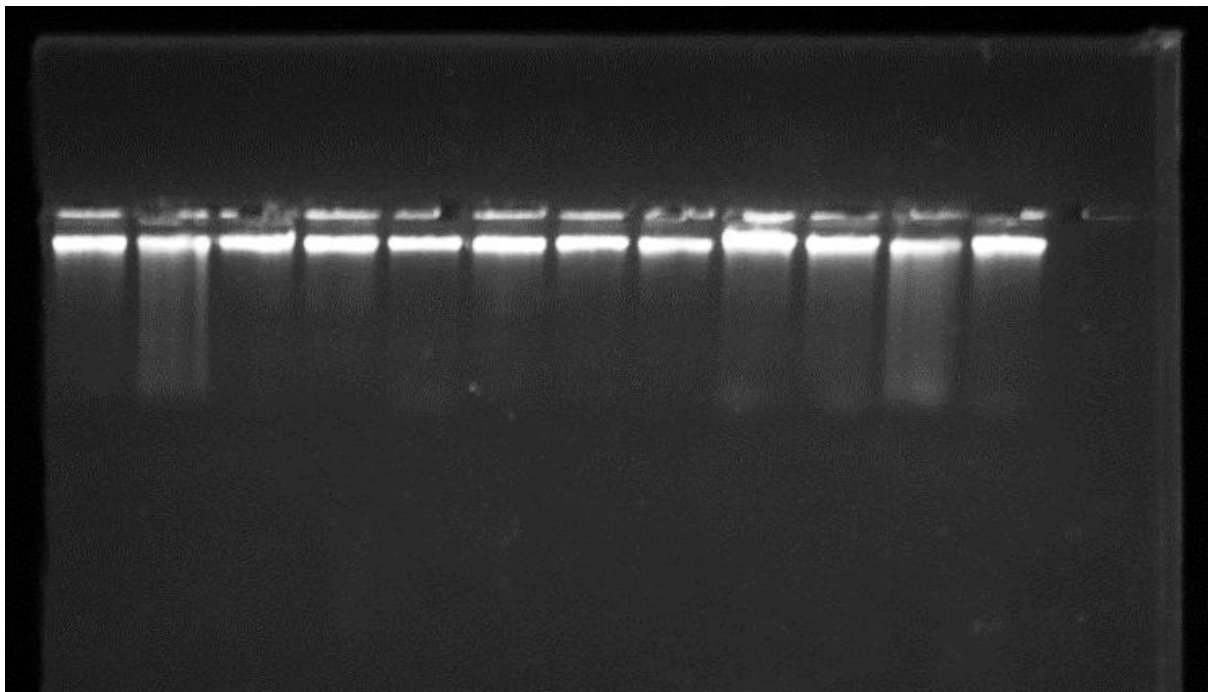


Figura 1 – Análise da qualidade da extração de DNAs de cártamo revelados em gel de agarose à 1%.

3.5. Amplificação e revelação dos amplicons

Para a amplificação, foram utilizados 21 *primers* para os *loci* SSR (Tabela 2), para representar a variabilidade genética dos cártamo, sendo pré-estabelecidos por Mokhtari et al. (2018) e Kiran et al. (2017).

As amostras de DNAs utilizadas na PCR foram diluídas para a concentração de $10 \text{ ng-}\mu\text{L}^{-1}$ utilizando-se água ultrapura autoclavada como diluente. O mix de PCR foi preparado conforme quantidade e concentração a seguir: 2 μL de DNA ($10 \text{ ng-}\mu\text{L}^{-1}$); 0,5 μL do mix de desoxirribonucleotídeos (dATP, dCTP, dGTP e dTTP) (10 mM); 1.25 μL de cada *primer* (*forward* e *reverse*) (10 μM); 5 μL de *buffer* (5X) contendo

magnésio (7,5 mM); 0,2 µL taq polimerase (5U) e 14,8 µL de água ultrapura autoclavada, totalizando um volume final de reação de 25 µL.

Tabela 2 – Descrição dos 21 marcadores moleculares SSR que foram utilizados para identificação da variabilidade molecular dos 121 genótipos de *Carthamus tinctorius* L.

Ordem	Nome da sequência	Tipo de repetição	Sequência 5' a 3' do primer	Temp. de anelamento(°C)
1	CT3	(CT) ₅ ...(CT) ₁₀	AGCGAGACAACCTCTGGGTGT GTGCACCAACTCTGCCTTTA	55,2
2	CT4	(CT) ₉	GCGTTTCGAGAAACATTTCGAG AGCCCCATTTGTAGGGATA	54,1
3	CT6	(CT) ₄ ...(CT) ₁₀	AAAGCCCGCCTAAAACACTT AATACGAGTTTCGATTGTGTGC	58
4	CT7	(AG) ₆ ...(AGT) ₅	AGTTTTTCAAGGCAGGTGACA CCGTTTTAACTCCCAAACCA	54
5	CT10	(AG) ₄	GTCCGATGCGGTCAAAAT GTTTCAACCACCCGGTTTC	55,2
6	CT11	(TCCT) ₃ ...(TTC) ₂	CGCCTTTCAATCCTTGTCTC CAGCACCAAGAACCATAGCA	54,1
7	CT12	(CTTT)GA(CTTT) ₂	GGCGACGAATTTGAGTTCAC ACCAATCGAAAACGGAGATG	54,1
8	CT13	(TCAC) ₂ (TTC) ₂	CTGGAAGTGACCAAACAACCT GGTTGAGTCTTATTTGGGAGATG	54,1
9	CT14	(TCC) ₄ TCA	CTTCCTTGTGCTCGTCACA ACACATCCCTCGTTTTCCAG	54,1
10	CT19	(CT) ₄₀	GCTTCCGAATTGAACGGAGA ACATCATCGCCACGTCAGTT	54
11	CT26	(GGAAA) ₂	CATCGCTACCAACCATAACC GCGGAATCGAACAACCTATC	54,3
12	CT31	(AG) ₄	CCGACGAAGTGGTGAATAGG TATCCAAACATGCGGTTTCA	55,2
13	CT316	(TC) ₈	CTGAACGAAAACGCGAGTCAA TGGGTTTTGGATGTGAGGAT	56,5
14	CT657	(CAT) ₆ ...(CAT) ₁₂	GGCTCAACTCGACTCATCATC GCTTGTTGGGAGGGATCATA	56
15	CT309	(TA) ₈	TTGCAAGATTGTTCTGTCGAT TCCCTTCCTATTCTGGACCC	55,2
16	CT599	(TC) ₁₁ ...(TA) ₆	CATTAACCCATCCATCACCC TGTCTCTCTGAAAGCACCG	56
17	CT006	(GT) ₁₂	CAATTGCTTCCACCAAGAT TACTCCTACCCGCCACAAAC	55,2
18	CT820	(AG) ₇	TTGCCATTGTTCTGTTAGGT AAAAGAAAACGCGCAGAAGA	55,2
19	CT440	(AG) ₉	AGCAGTAGAGCATAACGCC CAGCCAGCCAGAATGATCG	59,8
20	CT518	(AG) ₁₀	CCCTTTTGTCTCTCAACCT CTTGGGCCTTCTCTCTTCT	55,2
21	CT558	(TCC) ₅ ...(GA) ₂₁	ACCTTCTCCTCACCTCCGAT GTCTTAAGCTGTTCCGCCTG	55,2

Seguindo o protocolo de Williams et al. (1990), as reações de amplificação do DNA via PCR foram realizadas em termociclador Perkin Elmer modelo 9600,

consistindo em uma fase de desnaturação inicial a 94 °C por cinco minutos, seguido por 35 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 s, anelamento conforme a temperatura específica do *primer* (Tabela 2) por 30 s, extensão a 72 °C por 30 s, e uma fase de extensão final a 72 °C por cinco minutos.

Posteriormente, o produto da PCR foi armazenado a 4 °C por tempo indeterminado, até o momento da revelação. Os produtos de amplificação (*amplicons*) foram corados com *Gel Red* e *Blue Juice* 6X e visualizados em gel de agarose a 3 %, tendo como solução tampão de corrida o Tris borato EDTA a 1 %, e fotografados em sistema de fotodocumentação Locus Biotecnologia/LPix Image versão 2.7 após quatro horas de corrida do gel à 60 Volts.

3.6. Análises estatísticas

A diversidade genética dos 121 genótipos de cártamo foi estimada por meio das frequências alélicas, número de alelos, heterozigosidade média observada (H_o), heterozigosidade média esperada (H_e), coeficiente de endogamia (F), sendo calculados com o auxílio programa GenAlEx 6.5 (Excoffier et al., 2005). Com o mesmo programa foram mensurados a estrutura genética das populações F_{st} (Wright, 1949).

A análise de variância molecular (AMOVA) foi utilizada para revelar a distribuição da diversidade genética entre e dentro da população e entre indivíduos, de acordo com Excoffier et al. (1992). A significância foi testada utilizando 1.000 permutações com um intervalo de confiança de 95%.

A análise baesiana de agrupamentos foi realizada com o auxílio do *software* Structure (Pritchard et al. 2000), utilizando-o para definir o número de grupos (K). As análises foram realizadas com 20 corridas para cada valor de K , 200.000 “burn-ins” e 500.000 simulações de Monte Carlo de Cadeias de Markov (MCMC). Para definição do K , mais provável em relação aos propostos, foram utilizados os critérios descritos por Pritchard & Wen (2004) e Evanno et al. (2005).

3.6.1. Índice de similaridade de Jaccard

O índice de similaridade de Jaccard foi empregado como base para avaliar a divergência genética entre os genótipos de cártamo, utilizando-se dados binários, para o emprego da análise multivariada. O índice de Jaccard exclui a coincidência do tipo “0-0” como fator de similaridade, sendo apenas considerada a coincidência do tipo “1-1” na consideração da similaridade entre dois acessos (Cruz e Carneiro, 2003). Diante disso, a similaridade entre pares de acessos por meio do coeficiente de Jaccard é dada por:

$$C_{jj'} = \frac{a}{a + b + c}$$

Em que:

$C_{jj'}$ – similaridade entre os genótipos j e j'

a – valor que quantifica o número de coincidência do tipo 1-1 para cada par de genótipos;

b – valor que quantifica o número de discordância do tipo 1-0 para cada par de genótipos;

c – valor que quantifica o número de discordância do tipo 0-1 para cada par de genótipos.

Devido o coeficiente de Jaccard ser uma medida de similaridade, é necessário para a análise de agrupamento, realizar o uso de medidas de dissimilaridade expresso pelo complemento aritmético, o qual é dado por:

$$I_{jj'} = 1 - C_{jj'}$$

Em que:

$I_{jj'}$ – dissimilaridade entre os genótipos j e j'

$C_{jj'}$ – similaridade entre os genótipos j e j'

3.6.2. Métodos de agrupamento

A matriz de dissimilaridade resultante do índice de Jaccard foram submetidas a agrupamentos, aplicando-se os métodos de otimização de Tocher e método hierárquico UPGMA utilizando o recurso computacional GENES (Cruz, 2013). No método de otimização de Tocher segue como critério de inclusão de que a média das medidas de dissimilaridade, dentro de cada grupo, deve ser menor que as distâncias médias entre quaisquer grupos (Cruz, 2005). O valor máximo da distância dentro do grupo (θ) pode ser estabelecido arbitrariamente. A inclusão de um grupo é aceita quando:

Neste caso, a inclusão do indivíduo k no grupo é feita quando: $d_{(ij)k}$

$$\frac{d_{(ij)k}}{n} \leq \theta$$

Em que:

n – número de indivíduos que constitui o grupo original

O método UPGMA descreve que a distribuição dos indivíduos no dendrograma não segue um critério de formação de grupos, pois o principal aspecto desse método consiste nas ramificações que são obtidas. O agrupamento se dá em pares, utilizando-se médias aritméticas da dissimilaridade. O dendrograma prioriza os genótipos com maior similaridade, e as distâncias entre um indivíduo e um grupo formado pelos indivíduos i e j são calculadas por:

$$d_{(ij)k} = \text{média} \{d_{ik} + d_{jk}\} = \frac{d_{ik} + d_{jk}}{2}$$

Em que: $d_{(ij)k}$ - distância entre o grupo ij e o acesso k ;

d_{ik} - distância entre os acessos i e k ;

d_{jk} - distância entre os acessos j e k .

Os resultados da validação dos agrupamentos foram determinados pelo coeficiente de correlação cofenético (CCC) (Sokal e Rohlf, 1962) e a significância da correlação cofenética vão ser calculadas pelo Teste de Mantel (1967) (1.000 permutações).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Diversidade genética

Na Tabela 3 encontramos os resultados para número de alelos, heterozigosidade observada (H_o) e esperada (H_e) e coeficiente de endogamia (F), com a qual é possível obter informações sobre a diversidade genética para os 121 *Carthamus tinctorius* L. e os 21 *primes* de SSR utilizados neste estudo apresentaram 100 % de polimorfismo.

O número de alelos detectados entre os genótipos considerando os 21 loci foi de 158, variando de seis (CT6, CT12, CT13 e CT19) a 11 (CT26), com média de 8 alelos por locus (Tabela 3). Kiran et al. (2017) avaliando a divergência genética entre 148 genótipos de cártamo utilizando 48 marcadores moleculares SSR encontraram o número de alelos superiores ao deste trabalho variando de dois a 15, com média inferior de quatro por locus. Já Mokhtari et al. (2018) estudando a divergência genética de 103 genótipo de cártamo por meio de 32 marcadores moleculares SSR obtiveram o número de alelos inferiores, diversificando de dois a quatro, possuindo média de três por locus.

O número alelos é um importante parâmetro para identificar a diversidade genética entre populações que irão a posteriori participar de programas de melhoramento, sendo que, quanto maior o número de alelos presentes em uma população, maior é sua diversidade e, assim maior será a chance de identificar combinações genotípicas favoráveis, logo, esse parâmetro é bastante influenciada pela quantidade de genótipos avaliados, tendendo a aumentar quanto maior for o tamanho amostral (Petit et al., 1998; Maciel, 2014). Então isso explica os resultados encontrados no presente estudo, pois se comparando com os trabalhos citados, o número de alelos encontrados foi inferior ao de Kiran et al. (2017) e superior ao de Mokhtari et al. (2018) devido a quantidade de genótipos avaliados serem diferentes em cada estudo.

Tabela 3. Estimativa de diversidade genética dos 121 genótipos de *Carthamus tinctorius* L. obtidos a partir de 21 marcadores SSR*

SSR locus	Nº de Alelos	He	Ho	F
CT3 ^{***}	8	0,747	0,000	1,000
CT6 ^{***}	6	0,661	0,000	1,000
CT4 ^{***}	7	0,746	0,000	1,000
CT006 ^{**}	7	0,718	0,000	1,000
CT10 ^{***}	9	0,748	0,053	0,940
CT7 ^{***}	8	0,714	0,012	0,987
CT11 ^{***}	7	0,713	0,000	1,000
CT12 ^{***}	6	0,551	0,000	1,000
CT13 ^{***}	6	0,661	0,000	1,000
CT14 ^{**}	7	0,729	0,000	1,000
CT19 ^{***}	6	0,653	0,000	1,000
CT26 ^{***}	11	0,804	0,502	0,383
CT31 ^{***}	7	0,727	0,000	1,000
CT309 ^{***}	7	0,709	0,000	1,000
CT316 ^{***}	8	0,718	0,159	0,818
CT440 ^{***}	8	0,733	0,000	1,000
CT518 ^{***}	7	0,739	0,000	1,000
CT558 ^{***}	8	0,757	0,000	1,000
CT559 ^{**}	8	0,754	0,000	1,000
CT657 ^{***}	9	0,755	0,000	1,000
CT820 ^{***}	8	0,746	0,015	0,983

He = heterozigosidade esperada; Ho = heterozigosidade observada; F = coeficiente de endogamia. Nível de significância Equilíbrio de Hardy-Weinberg: *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001.

A heterozigosidade esperada (He) no estudo apresentou valores elevados, variando de 0,551 a 0,804, com média de 0,718. Esse valor médio é superior ao encontrado por Lee et al. (2014) e de Bahmankar et al. (2017) que foi de 0,386 e 0,537 respectivamente, mostrando pouca diversidade genética nos estudos comparados.

Já a heterozigosidade observada (Ho) foi baixa, variando de 0,000 a 0,502, com média 0,035. Ambreen et al. (2018) ao avaliarem 124 genótipos de cártamo via 93 *primers* SSR também observaram baixa Ho de 0,112. O baixo polimorfismo

encontrado pode ser causado pela predominância da reprodução sexual ser de autopolinização, indicando alto índice de homozigose.

Os resultados dos índices de coeficiente de endogamia (F) foram positivos em todos os locus e em todas as populações, possuindo uma média geral de 0,958, o que é esperado para plantas de reprodução do tipo autóginas. Godoi (2014) obteve resultado semelhante avaliando a divergência genética em uma espécie autógina via marcador SSR obtendo o valor de F médio de 0,930, sendo que estudos que observam a média de F bem próxima a um, indica um alto grau de endogamia.

Os valores de F altos e positivos são em decorrência dos níveis de H_e em relação à H_o , tanto para cada loco tanto em cada população, indicando um provável processo de endogamia. A análise de F possibilita a mensuração da deficiência ou excesso de genótipos heterozigotos presentes nas populações. Essa análise estima a probabilidade de que dois alelos sejam idênticos por descendência, podendo haver a variação do coeficiente de -1 a 1, onde valores negativos expressam que existem mais indivíduos heterozigotos do que o esperado, valores positivos indicam maiores números de homozigotos e o valor nulo indica que a reprodução é aleatória.

Os valores obtidos pela AMOVA (Análise de Variância Molecular) mostra que variação genética revelou que 91 % variabilidade genética total está contida dentro das populações, 5 % da variabilidade está concentrada entre populações e 4 % entre os indivíduos, já a variabilidade entre regiões obteve resultado nulo (Tabela 4).

Tabela 4. Quadro de análise de variância molecular (AMOVA) de genótipos de *Carthamus tinctorius* L. oriundos de dez populações pertencentes a seis regiões geográficas distintas

Fonte de Variação	Grau de Liberdade	Soma de Quadrados	Componentes de Variação	Variação (%)
Entre Regiões	5	135,28	27,05	0 %
Entre Populações	4	110,78	27,69	5 %
Dentro Populações	100	1960,21	19,60	91 %
Entre Indivíduos.	110	46,00	0,41	4 %
Total	219	2252,29	-	100 %

Em geral, os valores de medida de diferenciação genética (F_{ST}) entre as populações foram encontrados baixos em média de 0,010, sugerindo baixa estrutura populacional, pois segundo (Weir, 1996) quando o F_{ST} é baixo, a frequência dos alelos dentro de cada população é semelhante, já quando este valor é elevado, as frequências alélicas nas populações são distintas.

Resultados semelhantes foram encontrados por Kiran et al. (2017) ao avaliarem 148 genótipos de cártamo, em que a AMOVA mostrou que a maior parte da variação genética 85 % foi explicado pelos indivíduos dentro das populações e 15 % foi explicado entre as populações, que também evidenciava reduzida estrutura populacional.

4.2. Análise Multivariada

O agrupamento realizado pelo método de Tocher modificado, baseado na similaridade de Jaccard, estimada a partir de 21 marcadores SSR, permitiu a individualização dos genótipos em 19 grupos (Tabela 5). O grupo I foi o mais numeroso, alocando 14 genótipos do total avaliado (12,74 %), oriundos das populações e regiões, respectivamente: Índia e Paquistão (Ásia Meridional), Irã e Turquia (Oriente Médio), China (Ásia Oriental) e Cazaquistão (Ásia Central).

O Grupo II e III foi composto por 11 genótipos, correspondendo a 10 % do total avaliado, provenientes das seguintes populações e regiões: Paquistão e Índia (Ásia Meridional), Irã (Oriente Médio), Etiópia (África Oriental) Bangladesh e China (Ásia Oriental) e EUA (América do Norte), respectivamente.

Os grupos VI, VII, XIII, XIV e XVI corresponderam um total de 33 (29,99 %) genótipos. Esses grupos são correspondentes as seguintes populações e regiões, Índia (Ásia Meridional), EUA e Canadá (América do Norte), China (Ásia Oriental), Turquia e Irã (Oriente Médio) e Etiópia (África Oriental).

Os grupos IV, V, VIII e IX foram formados contendo seis genótipos cada (5,45 %), oriundos das populações e regiões da, China (Ásia Oriental), EUA (América do Norte), Índia (Ásia Meridional), Turquia e Irã (Oriente Médio) e Bangladesh (Ásia Oriental). Também foi observado neste estudo a formação de

quatro grupos (X, XII, XV e XIII) com três genótipos cada (2,73 %), pertencentes as populações e, respectivas regiões: Cazaquistão (Ásia Central), China (Ásia Oriental), EUA (América do Norte), Índia e Paquistão (Ásia Meridional), Turquia (Oriente Médio) e Etiópia (África Oriental).

Tabela 5 - Representação do agrupamento gerado pelo método de otimização de Tocher Modificado com base na dissimilaridade entre os 110 genótipos de cártamo

Grupos	Genótipos	% de genótipos
I	20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 42, 43, 45, 58, 61 e 82	12,74
II	11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 40, 41, 52 e 54	10,00
III	6, 59, 60, 77, 78, 79, 88, 89, 90, 93 e 96	10,00
IV	91, 92, 94, 95, 108 e 109	5,45
V	10, 33, 34, 35, 36 e 37	5,45
VI	8, 70, 71, 72, 73, 74, 76 e 85	7,27
VII	2, 3, 4, 87, 105, 106 e 107	6,36
VIII	29, 30, 44, 46, 62 e 110	5,45
IX	48, 49, 50, 51, 53 e 55	5,45
X	32, 75 e 86	2,73
XI	9 e 81	1,82
XII	7, 68 e 69	2,73
XIII	57, 66, 67, 83, 84, 98, 99, 100 e 101	8,18
XIV	63, 64, 65, 97 e 104	4,54
XV	5, 28 e 47	2,73
XVI	38, 39, 102 e 103	3,64
XVII	18 e 19	1,82
XVIII	1, 31 e 80	2,73
XIX	56	0,91

Na maioria dos grupos formados pelo método de agrupamento de Tocher modificado verificou-se a presença de indivíduos coletados em diferentes populações e regiões do mundo, indicando pouca variabilidade entre os genótipos

avaliados. Reis et al. (2015) e Araújo et al. (2019) também verificaram essa baixa relação entre a diversidade genética e os locais de coleta ao avaliar características de interesse, pois, a procedência geográfica nem sempre pode ser utilizada como indicador de diversidade genética, sendo que em muitos casos, não resulta em maior distância genética, corroborando com os resultados obtidos nesse trabalho.

Na análise do Tocher modificado verificou-se que a formação dos grupos XI e XVII ocorreu com apenas dois genótipos cada (1,82 %), provenientes das populações da Índia e Paquistão (Ásia Meridional), China (Ásia Oriental) e Irã (Oriente Médio). O Grupo XIX foi o composto por apenas um genótipo (0,91 %) sugerindo que este seja o mais divergente de todos os genótipos avaliados, sendo oriundo da população do Irã (Oriente Médio). Esse resultado indica que o genótipo 56 é o mais divergente em relação aos demais genótipos e deve ser indicado para possíveis programas de melhoramento de plantas. Resultados semelhantes foram encontrados por Oliveira (2017), Cordeiro et al. (2020), Santos et al. (2020), onde ocorreu a formação de grupos pelo método de Tocher modificado com apenas um genótipo.

O dendrograma obtido pelo método hierárquico de UPGMA com um corte significativo a 90 % possibilitou a divisão dos genótipos em 15 grupos (Figura 2). Os grupos mais numerosos foram o Grupo I que alocou 23 genótipos, seguido do grupo IV com 11 genótipos e o grupo IX com dez genótipos. Todos os genótipos agrupados nos três grupos são pertencentes às populações e regiões da Índia e Paquistão (Ásia Meridional), Irã e Turquia (Oriente Médio), Cazaquistão (Ásia Central), China (Ásia Oriental), EUA (América do Norte) e Etiópia (África Oriental).

Verificou-se a formação de nove grupos com amplitude de quatro a nove genótipos cada, sendo eles o grupo VIII, com nove genótipos, grupo V com oito genótipos, os grupos VI, X, e XIV com sete genótipos cada um, grupo III com seis genótipos, grupo XI com cinco genótipos e os grupos II e XIII com quatro genótipos. Os referidos grupos são provenientes das seguintes populações e regiões, Turquia (Oriente Médio), Índia e Paquistão (Ásia Meridional), EUA e Canadá (América do Norte), China (Ásia Central), Irã (Oriente Médio), Bangladesh (Ásia Oriental), Etiópia (África Oriental), respectivamente.

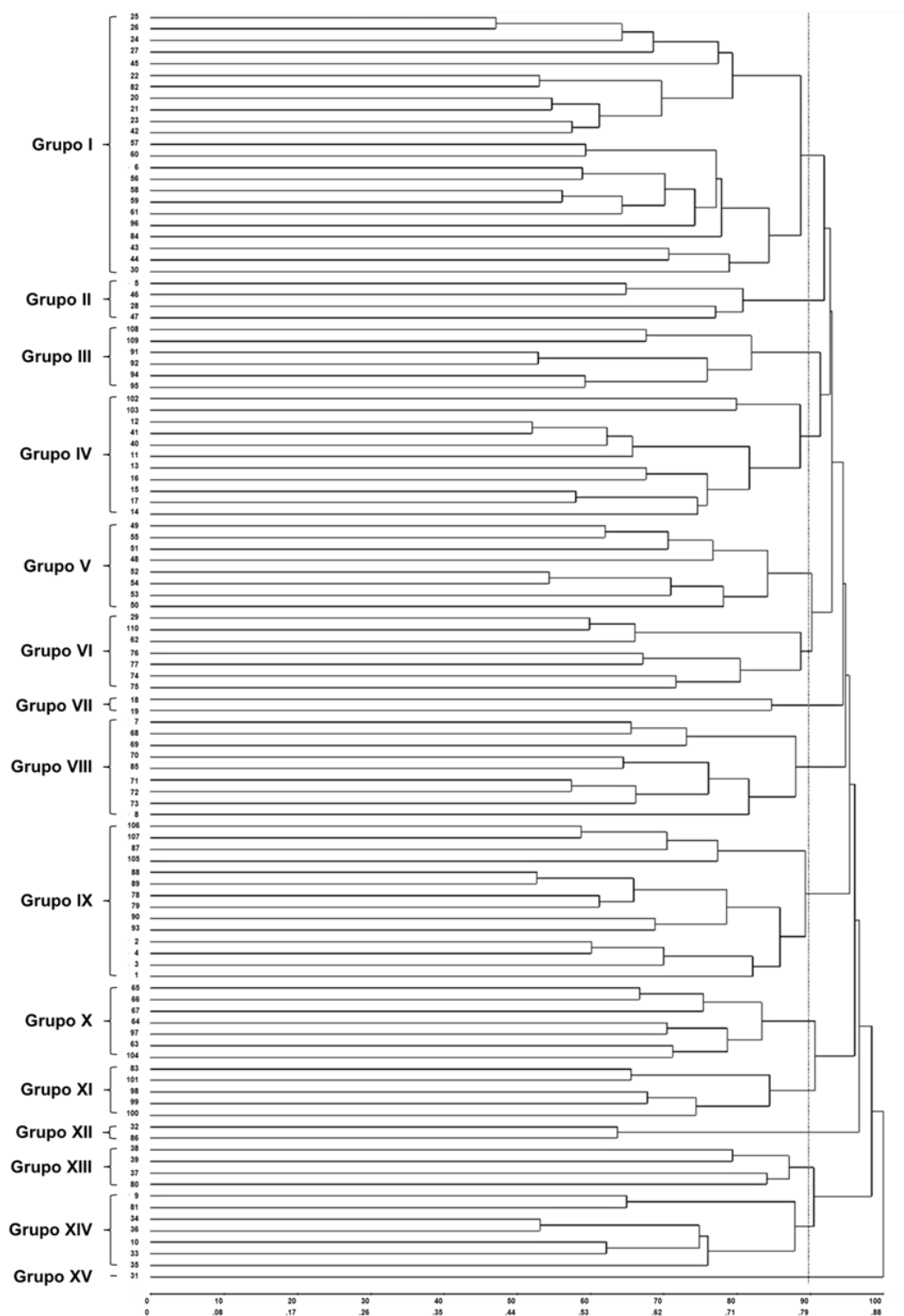


Figura 2 - Dendrograma representativo do agrupamento de 110 genótipos de cártamo, pelo Método UPGMA, com base na dissimilaridade estimada a partir de características moleculares.

Os grupos VII e XII foram compostos por dois genótipos cada um, e o grupo XV alocou-se apenas um genótipo, sendo, o mesmo, considerado o genótipo mais divergente em relação aos demais grupos. Grupos que são formados por apenas um material, apresentam um forte indicativo de que seja mais divergente quando comparado aos demais, facilitando a prospecção dos trabalhos em programas de melhoramento (Rotili et al., 2012). Observa-se que não houve uma estruturação geográfica em relação à similaridade entre os genótipos da mesma população ou região, já que alguns genótipos da mesma população ou região foram alocados em grupos diferentes.

A consistência do dendrograma obtido foi avaliada por meio do coeficiente de correlação cofenética (CCC), que mede a correlação entre as distâncias recuperadas do dendrograma com a matriz de distâncias originais proposto por Sokal e Rohlf (1962). Com base no CCC, aplicado ao método de agrupamento pelo teste t, observou-se valor significativo ($P \leq 0,01$) para o método de agrupamento médio entre grupos (UPGMA), com ($r \geq 0,62$) revelando variabilidade na consistência do padrão de agrupamento entre os genótipos.

Lira (2019) encontrou resultados próximos ao deste trabalho avaliando genótipos de cártamo em Cáceres-MT, obtendo um CCC de 0,70. Correa et al. (2020) avaliando a dissimilaridade fenotípica em genótipos de girassol no município de Cáceres-MT, sendo a espécie da mesma família do cártamo, obtiveram CCC de 0,65, significativo a 1% de probabilidade pelo teste “t”. Já Santos (2020), avaliando genótipos de cártamo encontrou um CCC superior ao deste trabalho, com resultado de 0,76.

Ambos os métodos de agrupamentos (Tocher modificado e UPGMA) demonstraram semelhança no agrupamento dos genótipos, os grupos X e XVII formados a partir do agrupamento de Tocher modificado são semelhantes aos Grupos XII e VII pelo método de UPGMA. Os genótipos alocados nos grupos I, XIX e parte do grupo III de Tocher modificado foram todos alocados dentro do Grupo I de UPGMA, e os demais grupos formados não apresentaram semelhança nos agrupamentos dos genótipos de cártamo. O agrupamento pelo método de Tocher proporcionou a formação de um número maior de grupos em relação ao método hierárquico UPGMA Oliveira et al. (2019) encontrou resultados semelhantes com

aplicação destas metodologias, onde os métodos UPGMA e Tocher foram eficientes na categorização dos genótipos, mesmo tendo diferença na quantidade de grupos formados.

4.3. Estrutura populacional

Ao utilizarmos o método Bayesiano, proposto por Evanno et al. (2005) (Figura 3), empregando o *software* Structure, conseguimos identificar a estrutura deste conjunto de genótipos avaliados. Os dados oriundos de Delta K demonstraram a presença de apenas um pico ($K=2$), sendo considerado o maior pico e a maior adequação dos dados nos dois grupos sugeridos, sendo presumido que este seja o real valor de K.

O agrupamento dos genótipos de cártamo através da análise de estrutura populacional (Figura 4) possibilitou a formação de dois grupos, corroborando com os resultados obtidos pelo gráfico de variação de Delta K (Figura 3). O Grupo I foi composto por 58 genótipos provenientes das populações e regiões respectivamente, Etiópia (África Oriental), Turquia e Irã (Oriente Médio), Índia e Paquistão (Ásia Meridional), Cazaquistão (Ásia Central), China (Ásia Oriental) e EUA (América do Norte). Já o Grupo II foi composto por 63 genótipos, oriundos das seguintes populações e regiões, Turquia e Irã (Oriente Médio), Bangladesh (Ásia Oriental) Índia (Ásia Meridional) China (Ásia Oriental) e EUA e Canadá (América do Norte).

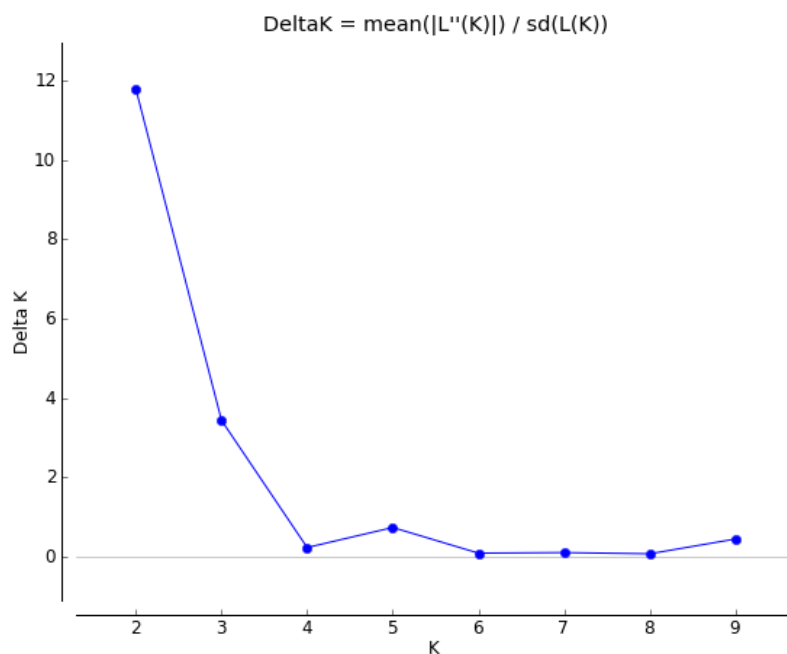


Figura 3 - Gráfico de variação do Delta K da estimativa da estruturação genética dos genótipos de *Carthamus tinctorius* L.

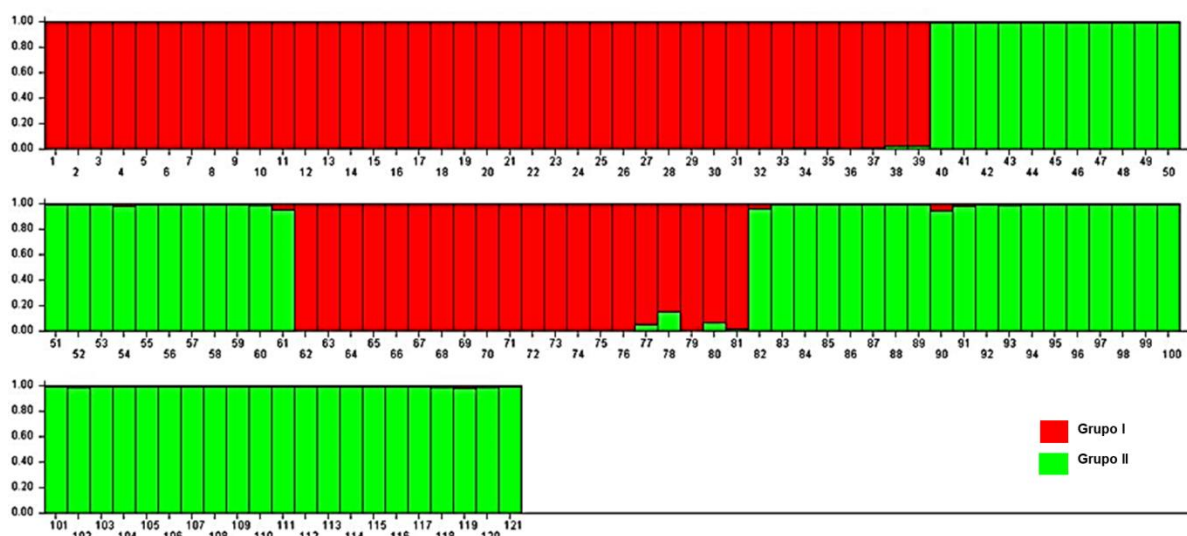


Figura 4 – Estrutura populacional de dez populações e seis regiões de *Carthamus tinctorius* L. compostas por 121 genótipos, com base em 21 marcadores moleculares SSR. $K=2$. Cada barra vertical representa um acesso e a porcentagem de adesão a cada grupo.

Resultado semelhante foi encontrado por Mokhtari et al. (2018) avaliando a diversidade genética e estrutura genética da população de *Carthamus tinctorius* L. usando marcadores SSR, onde os autores observaram a divisão dos genótipos em dois grupos.

A presença de introgressores está relacionada com genótipos que contêm cores diferentes na mesma barra de bar plot (Figura 4), a proporção média de fragmentos introgrididos foi de aproximadamente 13%, apresentando a ocorrência de genótipos agrupados em mais de um grupo. Houve introgressão nos dois grupos avaliados, porém em maior intensidade no genótipo 78 do grupo I. A ocorrência de introgressão nos genótipos de cártamo foi baixa, considerando que apenas 11 genótipos do total avaliado, apresentam a presença de introgressões, provenientes de indivíduos da outra população.

Uma baixa taxa de introgressão de genes também foi observado por Asfaw et al. (2009), quando fizeram estudos genéticos de feijões landraces oriundos da Etiópia e do Quênia. Franzon (2018) estudando a estruturação de populacional de linhagens de feijão comum em ensaios de VCU da região Sul do Brasil, encontrou a presença de três grupos distintos na estrutura populacional, com presença de introgressores de aproximadamente 50% entre os três grupos avaliados. Uma proporção maior de introgressores foi encontrada por Fisseha et al. (2016) quando estudaram acessos de feijão da Etiópia, em que 58% dos acessos foram introgressores.

5. CONCLUSÕES

Os genótipos de *Carthamus tinctorius* L. apresentaram variabilidade genética, sendo possível explorar esta variabilidade em programas de melhoramento.

Os marcadores SSR utilizados possibilitaram encontrar um número de alelos de 158, uma heterozigosidade esperada média de 0,718, heterozigosidade observada média de 0,035 e o um índice de coeficiente de endogamia de 0,958.

Os métodos de agrupamento promoveram agrupamentos parcialmente semelhantes, com formação de XIX Grupos para o Tocher modificado e XV Grupos para o dendrograma de UPMGA.

A análise de estruturação populacional demonstrou haver presença de duas populações entre os genótipos avaliados, com poucas introgressões gênicas.

A diversidade genética dos genótipos avaliados demonstrou que a distribuição geográfica, neste estudo, não está relacionada com a distância genética dos genótipos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUD, H. F.; GONÇALVES, N. R.; REIS, R. G. E.; GALLAO, M. I.; INNECCO, R. Morfologia de sementes e plântulas de cártamo. **Revista Ciência Agronômica**. 41: 259-265, 2010.

AMBREEN, H.; KUMAR, S.; KUMAR, A.; AGARWAL, M.; JAGANNATH, A.; GOEL, S. Association mapping for important agronomic traits in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) core collection using microsatellite markers. **Frontiers in plant Science**. 9: 402, 2018.

AMBREEN, H.; KUMAR, S.; VARIATH, M.T.; JOSHI, G.; BALI, S.; AGARWAL, M.; KUMAR, A.; JAGANNATH, A.; GOEL, S. Development of Genomic Microsatellite Markers in *Carthamus tinctorius* L. (Safflower) Using Next Generation Sequencing and Assessment of Their Cross-Species Transferability and Utility for Diversity Analysis. **Plos one**. 8: e0135443. 2015.

ARANTES, M. A. **Cártamo (*Carthamus tinctorium* L.) produção de biomassa, grãos, óleo e avaliação nutritiva da silagem**. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 2011. 34p. (Dissertação – Mestrado em Produção Animal Sustentável).

ARAÚJO, L. B. R.; BARROSO NETO, A. M.; PIRES, K. R. A.; BERTINI, C. H. C. M. Diversidade genética em pinhão manso com base em marcadores ISSR. **Nativa**. 7: 363-370, 2019.

ASFAW, A.; BLAIR, M. W.; ALMEKINDERS, C. Genetic diversity and population structure of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces from the East African highlands. **Theoretical and Applied Genetics**. 120: 1-12, 2009.

ASHRI, A.; KNOWLES, P. F. Cytogenetics of safflower *Carthamus* L. species and their hybrids. **Agronomy Journal**. 52: 11-17, 1960.

AUGUSTINHO, E. T. **Silagem e torta de cártamo na alimentação de ovinos como alternativa à silagem de milho e farelo de soja**. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 2013. 58p. (Dissertação – Mestrado em Produção Animal Sustentável).

BAGHERI, B.; SAM-DAILIRI, M. Effect of water stress on agronomic traits of safflower spring (*Carthamus tinctorius* L.). **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**. 5: 2621-2624, 2011.

BAHMANKAR, M.; NABATI, D. A.; DEHDARI, M. Genetic relationships among Iranian and exotic safflower using microsatellite markers. **Journal of Crop Science and Biotechnology**. 20: 159-165, 2017.

BARATI, M.; ARZANI, A. Genetic diversity revealed by EST-SSR markers in cultivated and wild safflower. **Biochemical Systematics and Ecology**. 44: 117-123, 2012.

BRITANNICA ACADEMIC. **Safflower**. (2019). Disponível em: <https://academicebbritannica.ez87.periodicos.capes.gov.br/levels/collegiate/article/safflower/64715>. Acesso em: 08 de Julho de 2020.

CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B.; BRITO, G. G.; SAKAUAMA, N. S. Tipos de marcadores moleculares. In: CAIXETA, E. T.; BORÉM, A. (Ed.). **Marcadores moleculares**. Viçosa: UFV, 2006. 374p.

CAVERS, S.; DEGEN, B.; CARON, H.; LEMES, M. R.; MARGIS, R.; SALGUEIRO, F.; LOWE, A. J. Optimal sampling strategy for estimation of spatial genetic structure in tree populations. **Heredity**. 95: 281–289, 2005.

CHAPMAN, M. A.; HVALA, J.; STREVER, J.; MATVIENKO, M.; KOZIK, A.; MICHELMORE, R. W.; TANG, S.; KNAPP, S. J.; BURKE, J. M. Development, polymorphism, and cross-taxon utility of EST–SSR markers from safflower (*Carthamus tinctorius* L.). **Theoretical and Applied Genetics**. 120: 85-91, 2009.

CHIES, T. T. S.; BURCHARDT, P.; ALVES, E. M. S.; ESSI, L.; SANTOS, E. K. O estudo da biodiversidade e evolução vegetal através de marcadores de DNA e citogenética: exemplos em Iridaceae e Poaceae. **Revista do Centro de Ciências Naturais e Exatas**. 36: 279–293, 2014.

CORDEIRO, A. G. M.; L. SILVA, H. R.; CARDOSO, E. S.; PENA, G. F.; ZORTÉA, K. É. M.; ROSSI, A. A. B. Diversidade genética entre cupuízeiros nativos do Portal da Amazônia, Mato Grosso, Brasil. **Scientific Electronic Archives**. 13, 2020.

CORONADO, L. M. **El cultivo del cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) en México**. Ciudad Obregon-México: SGI, 2010, 96p.

CORREA, V. R. S.; OLIVEIRA, T. C.; OLIVEIRA, A. J.; BARELLI, M. A. A.; DA SILVA, V. P.; GALBIATI, C.; POLETINE, J. P. Dissimilaridade fenotípica em genótipos de girassol. **Research, Society and Development**. 9: e3489119814, 2020.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, v.2. 585p. 2003.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. 3:271-276, 2013.

CRUZ, C. D. **Princípios de genética quantitativa**. Viçosa: UFV, 394p, 2005.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: Ed. UFV, 480p. 2005.

DAJUE, L; MÜNDEL, H. H. **Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crop**. IPGRI: International Plant Genetic Resource Institute. Rome, 1996. 81p.

DERAKHSHAN, E.; MAJIDI, M. M.; SHARAFI, Y.; MIRLOHI, A. Discrimination and genetic diversity of cultivated and wild safflowers (*Carthamus* spp.) using EST-microsatellites markers. **Biochemical Systematics and Ecology**. 54: 130-136, 2014.

EKIN, Z. Resurgence of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) utilization: a global view. **Journal of Agronomy**. 4: 83-87, 2005.

EMONGOR, V. Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) the underutilized and neglected crop: A review. **Asian Journal of Plant Science**. 9: 299-306, 2010.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular ecology**. 14: 2611 -2620, 2005.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. Arlequin: An integrated software package for population genetics data analysis, version 3.0. **Evolutionary Bioinformatics Online**. 1: 47– 50, 2005.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E.; QUATTRO, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**. 131: 479-491, 1992.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. 2019. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/>. Acesso em: 09 de setembro de 2020.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3ªed. Brasília: Embrapa Cenargen, 1998. 220p.

FISSEHA, Z.; TESFAYE, K.; DAGNE, K.; BLAIR, M. W.; HARVEY, J.; KYALLO, M.; GEPTS, P. Genetic diversity and population structure of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm of Ethiopia as revealed by microsatellite markers. **African Journal of Biotechnology**. 15: 2824-2847, 2016.

FLEMMER, A. C.; FRANCHINI, M. C.; LINDSTRÖM, L. I. Description of safflower (*Carthamus tinctorius*) phenological growth stages according to the extended BBCH scale. **Annals of Applied Biology**. 166: 331-339, 2015.

FRANZON, R. C. **Estrutura de população de linhagens de feijão comum dos ensaios de VCU da região Sul do Brasil**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2018. 93p. (Tese - Doutorado em Agronomia).

GERHARDT, I. F. S. **Divergência genética entre acessos de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.)**. São Paulo: Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, 2014. 73p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia/Agricultura).

GODOI, C. R. C. **Divergência genética e predição de valores genotípicos em soja**. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 2014. 108p. (Tese – Doutorado em Agronomia).

GOLKAR, P. Breeding improvements in safflower (*'Carthamus tinctorius'* L.): A review. **Australian Journal of Crop Science**. 8: 1079–1085, 2014.

GOLKAR, P.; MOKHTARI, N. Molecular diversity assessment of a world collection of safflower genotypes by SRAP and SCoT molecular markers. **Physiology and Molecular Biology of Plants**. 24: 1261-1271, 2018.

GRACIA, A. B.; MÁRQUEZ, J. P.; CAMARENA, M. G. G.; ESPINOZA, X. M. O.; CORONADO, L. M.; CERVANTES, J. M. Guía para producir cártamo en Sinaloa. **Fundación Produce**. 4: 1-22, 2010.

GUIDORIZZI, F. V. C. **Acúmulo de macronutrientes e produtividade de genótipos de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) em função da adubação nitrogenada no sistema plantio direto**. Botucatu: Faculdades de Ciências

Agronômicas de Botucatu – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2016. 69p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia/Agricultura).

HANDAN, Y.; PÉREZ-VICH, B.; VELASCO, L.; FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, J. M. Herança de alto teor de ácido oleico em cártamo. **Euphytica**.168: 1-69, 2009.

HARRIS, M.; HUTCHINS, A.; FRYDA, L. The Impact of Virgin Coconut Oil and HighOleic Safflower Oil on Body Composition, Lipids, and Inflammatory Markers in Postmenopausal Women. **Journal of Medicinal Food**. 20: 345-351, 2017.

HUSSAIN, M. I.; LYRA, D. A.; FAROOQ, M.; NIKOLOUDAKIS, N.; KHALID, N. Saline and safflower stress: a review. **Agronomy for Sustainable Development**. 36: 1-31, 2015.

KAR, G.; KUMAR, A.; MARTHA, M. Eficiência no uso da água e coeficientes de cultura das culturas oleaginosas da estação seca. **Gestão Agrícola de Água**. 87: 73-82, 2007.

KARAMI, S.; SABZALIAN, M. R.; RAHIMMALEK, M. Seed polyphenolic profile, antioxidative activity, and fatty acids composition of wild and cultivated *Carthamus* species. **Chemistry & biodiversity**. 15: e1700562, 2018.

KIM, S. G.; KO, H. C.; HUR, O. S.; LUITEL, B. P.; RHEE, J. H.; YOON, M. S.; BAEK, H. J.; RYU, K. Y.; SUNG, J. S. First report of Fusarium wilt caused by *Fusarium proliferatum* on safflower. **Research in Plant Disease**. 22: 111-115, 2016.

KIRAN, B. U.; MUKTA, N.; KADIRVEL, P.; ALIVELU, K.; SENTHILVEL, S.; KISHORE, P.; VARAPRASAD, K. S. Genetic diversity of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) germplasm as revealed by SSR markers. **Plant Genetic Resources**. 15: 1, 2017.

KUMAR, S.; AMBREEN, H.; VARIATH. M. T.; RAO, A. R.; AGARWAL, M.; KUMAR, A.; GOEL, S.; JAGANNATH, A. Utilization of Molecular, Phenotypic, and Geographical Diversity to Develop Compact Composite Core Collection in the Oilseed Crop, Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) through Maximization Strategy. **Frontiers in Plant Science**. 7: 1554, 2016.

LEE, G. A.; SUNG, J. S.; LEE, S. Y.; CHUNG, J. W.; YI, J. Y.; KIM, Y. G.; LEE, M. C. Genetic assessment of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) collection with microsatellite markers acquired via pyrosequencing method. **Molecular ecology resources**. 14: 69-78, 2014.

LIRA, J. P. E. **Caracterização agrônômica e morfológica de genótipos de *Carthamus tinctorius* L. no Mato Grosso – Brasil**. Cáceres: Universidade Estadual de Mato Grosso “Carlos Alberto Reyes Maldonado”, 2019. 52p. (Dissertação – Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

LITT, M.; LUTY, J. A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **The American Journal of Human Genetics**. 44: 397-401, 1989.

MACIEL, K. D. J. S. **Análise da diversidade e divergência genética em clones de *Eucalyptus* spp. potencialmente importantes para Goiás**. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 2014. 63p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

MAGALHÃES, J. R. **Adubação nitrogenada e potássica no desenvolvimento de *Carthamus tinctorius* L.** Montes Claros: Universidade Federal de Minas Gerais, 2017. 57p. (Dissertação – Mestrado em Produção Vegetal).

MANTEL, N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Research**. 27: 209-220, 1967.

MEDEIROS, P. T. **Viabilidade técnica do biodiesel metílico do óleo de duas variedades de *Carthamus tinctorius* L. como substituto do diesel de petróleo**. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, 2011. 88p. (Dissertação - Mestrado em Química).

MIAH, G.; RAFII, M. Y.; ISMAIL, M. R.; PUTEH, A. B.; RAHIM, H. A.; ISLAM, K. N.; LATIF, M. A. A review of microsatellite markers and their applications in rice breeding programs to improve blast disease resistance. **International journal of molecular sciences**. 14: 22499-22528, 2013.

MILACH, S. C. K. **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: UFRGS, 1998, 140p.

MOKHTARI, N.; SAYED-TABATABAEI, B. E.; BAHAR, M.; ARABNEZHAD, H. Assessment of genetic diversity and population genetic structure of *Carthamus* species and Iranian cultivar collection using developed SSR markers. **Journal of genetics**. 97: 67-78, 2018.

MONDINI, L.; NOORANI, A.; PAGNOTTA, M. A. Assessing plant genetic diversity by molecular tools. **Diversity**. 1: 19-35, 2009.

MONTOYA C., L. **El cultivo del cártamo (*Cathamus tinctorius* L.) en México**. 1. ed. Ciudad Obregón: Comité Editorial del CENEB, 2010. 96p.

MOURA, P. C. S.; BORTOLHEIRO, F. P. A.; GUIMARAES, T. M.; LEAL, D. P. V.; SILVA, M. A. Características gerais e ecofisiologia do cártamo (*Carthamus tinctorius* L.). **Journal of Agronomic Sciences**. 4: 136-150, 2015.

MÜNDEL, H. H.; BLACKSHOW, R. E.; BYERS, J. R.; HUANG, H. C.; JOHNSON, D. L.; KEON, R. Safflower production on the Canadian Prairies. **Lethbridge: Agriculture and Agri-Food Canada**. 7: 1-36, 2004.

OELKE, E. A.; OPLINGER, E. S.; TEYNOR, T. M.; PUTNAM, D. H.; DOLL, J. D.; KELLING, K. A.; DURGAN, B. R.; NOETZEL, D. M. Safflower. **Alternative Field Crops Manual**. 3: 1-8. 1992.

OLIVEIRA NETO, S. S. **Seleção, estabilidade e adaptabilidade de progênes de cártamo para produtividade e teor de óleo**. Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP. 2020. 62p. (Tese – Doutorado em Agronomia).

OLIVEIRA, C. S.; PEIXOTO, J. V. M.; MOMESSO, M. P.; PEREIRA, L. M.; PERES, H. G.; MACIEL, G. M. Características de plântulas: dissimilaridade genética entre acessos de pimenta. **Revista Ciência, Tecnologia & Ambiente**. 9: e09114, 2019.

OLIVEIRA, R. L. D. **Divergência e estimativas de parâmetros genéticos em crambe**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2017. 34p. (Dissertação – Mestrado em Fitotecnia).

OMIDI, A. H.; SHARIFMOGADAS M. R. Evaluation of Iranian safflower cultivars reaction to different sowing dates and plant densities. **World Applied Sciences Journal**. 8: 953-958, 2012.

PADILHA, L.; GUIMARÃES, C. T.; PAIVA, E. **Avaliação da pureza genética em sementes de milho utilizando marcadores microssatélites**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2003, 3p.

PALUDO, J. T. S.; BONFIM-SILVA, E. M.; SILVA, T. J. A.; SOUZA, H. H. F.; ZANOTTO, M. D.; FENNER, W. Agronomic performance of Safflower genotypes

(*Carthamus tinctorius* L.) under different soil bulk density levels in the Oxisol of the Cerrado. **Australian Journal of Crop Science**. 12: 407-412, 2018.

PETIT, R. J.; MOUSADIK, A.; PONS, A. O. Identifying Populations for Conservation on the basis of genetic markers. **Conservation Biology**. 12: 844-855, 1998.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; ROSENBERG, N. A.; DONNELLY, P. Association mapping in structured populations. **The American Journal of Human Genetics**. 67: 170-181, 2000.

PRITCHARD, J. K.; WEN W. **Documentation for structure software: Version 2.1**, 2004.

QUEIROGA, V. P.; GIRÃO, E. G.; ALBUQUERQUE, E. M. B. **Cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) tecnologias de plantio e utilização**. Campina Grande: Ed. A Barriguda, 2020, 149p.

REIS, M. V. M.; DAMASCENO JÚNIOR, P. C.; CAMPOS, T. O.; DIEGUES, I. P. FEITAS, S. C. Variabilidade genética e associação entre caracteres em germoplasma de pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.). **Revista Ciência Agronômica**, 46: 412-420, 2015.

ROTILI, E. A.; CANCELLIER, L. L.; DOTTO, M. A.; CARVALHO, E. V.; PELÚZIO, J. M. Divergência genética em genótipos de milho, no Estado do Tocantins. **Revista Ciência Agronômica**. 43: 516-521, 2012.

SAADAoui, E.; MARTÍN, J. J.; TLILI, N.; CERVANTES, E. Castor bean (*Ricinus communis* L.): Diversity, seed oil and uses. In: PARVAIZ, A. (eds.). Oil seed crops: yield and adaptations under environmental stress, **Nova Jersey: Wiley Online Library**. 15: 19-33, 2017.

SAJEDI N. A.; FERASAT, M.; MIRZAKHANI, M.; BOOJAR, M. M. Impact of water deficit stress on biochemical characteristics of safflower cultivars. **Physiology and Molecular Biology of Plants**. 18: 323-329, 2012.

SANTOS, D. T. **Dissimilaridade genética mediante análises químicas e teor de óleo de *Carthamus tinctorius* L.** Cáceres: Universidade Estadual de Mato Grosso “Carlos Alberto Reyes Maldonado”, 2020. 63p. (Dissertação – Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

SANTOS, J. F. L.; ROSSI, A. A. B.; PENA, G. F.; TIAGO, A. V.; ZORTÉA, K. E. M.; CARDOSO, E. S.; PEDRI, E. C. M.; SANTOS, I. C. B.; SANTOS, P. H. A. D.; SANTOS, D. B.; SANTOS, I. R. B. Variability of fruits and seeds of *Byrsonima crassifolia* (Malpighiaceae) genotypes cultivated in northern Mato Grosso State, Brazil. **Genetics and Molecular Research**. 19: gmr 18620, 2020.

SEHGAL, D.; RAINA, S. N. *Carthamus*. In: KOLE, C. **Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources**. Berlin: Springer, 2011. 321p.

SHAHROKHANIA, M. H.; SEPASKHAH, A. R. Effects of irrigation strategies, planting methods and nitrogen fertilization on yield, water and nitrogen efficiencies of safflower. **Agricultural Water Management**. 172: 18-30, 2016.

SHARIFI, R. S.; NAMVAR, A. Grain filling and fatty acid composition of safflower fertilized with integrated nitrogen fertilizer and biofertilizers. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 52: 236-243, 2017.

SILVA, C. J.; **Caracterização agronômica e divergência genética de acessos de cártamo**. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2013. 51p. (Tese - Doutorado em Agricultura).

SILVA, C. J.; SILVA, A. C.; ZOZ, T.; TOPPA, E. V. B.; SILVA, P. B.; ZANOTTO, M. D. Genetic divergence among accessions of *Carthamus tinctorius* L. by morphoagronomic traits. **African Journal of Agricultural Research**. 10: 4825-4830, 2015.

SILVEIRA, L.; JÚNIOR, E. S.; DAL POZZO, D. M.; SANTOS, R. F.; TOKURA, L. K.; SECCO, D. Influência alelopática do extrato aquoso de folhas de Citronela (*Cymbopogon*) sobre a germinação e desenvolvimento inicial de quatro genótipos conhecidos de Cartamo (*Carthamus tinctorius* L.). **Acta Iguazu**. 6: 197-206, 2017.

SINGH, V.; NIMBKAR, N. Safflower (*Carthamus tinctorius* L.), In: SINGH, R, J: Genetic Resources Chromosome Engineering, and Crop Improvement: Oil Crops, **Boca Raton**. 8: 168-194, 2007.

SINGH, V.; NIMBKAR, N. Safflower. In: Breeding Oilseed Crops for Sustainable Production (Gupta, S. K. ed.). **Elsevier**. 147-165, 2016.

SINGH, V; NIMBKAR, N: Safflower (*Carthamus tinctorius* L.), In: SINGH, R, J: Genetic Resources Chromosome Engineering, and Crop Improvement: Oil Crops, **Boca Raton**. 8: 168-194, 2006.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**. 11: 33-40, 1962.

VIEIRA, E. A.; FIALHO, J. F.; FALEIRO, F. G; BELLON, G.; FONSECA, K.G.; CARVALHO, L.J.C.B.; SILVA, M.S.; PAULA-MORAES, S.V.; SANTOS FILHO, M.O.S.; SILVA, K.N. Divergência genética entre acessos açucarados e não açucarados de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 43: 1707-1715, 2008.

WEIR, B. S. **Genetics data analysis II: methods for discrete population genetic data**. Sunderland: Sinauer Associates, 1996. 455 p.

WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A. TINGEY, S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, 18: 6531-6535, 1990.

WRIGHT, S. The genetical structure of populations. **Annals of eugenics**. 15: 323-354, 1949.

ZOZ, T. **Avaliação de genótipos de cártamo quanto ao desempenho agrônomo, divergência genética e produtividade da água**. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2015. 64p. (Tese - Doutorado em Agronomia).