

BIANCA PORFÍRIO MONTEIRO DE OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ACESSOS DE PALMA
FORRAGEIRA DOS GÊNEROS *Opuntia* e *Nopalea***

Serra Talhada-PE

2025

**O
L
I
V
E
I
R
A**

**B
P
M**

**C
A
R
A
C
T
E
R
I
Z
A
Ç
ÃO**

**D
E**

**P
A
L
M
A**

**·
·
2
0
2
5**

BIANCA PORFÍRIO MONTEIRO DE OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ACESSOS DE PALMA
FORRAGEIRA DOS GÊNEROS *Opuntia* e *Nopalea***

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. José Geraldo Eugênio de França

Co-orientador: Dra. Luciana Gonçalves de Oliveira

Serra Talhada-PE

2025

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Bibliotecário(a): Auxiliadora Cunha – CRB-4 1134

O48c Oliveira, Bianca Porfírio Monteiro de.
Caracterização morfológica e molecular de
acessos de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e
Nopalea / Bianca Porfírio Monteiro de Oliveira. -
Serra Talhada, 2025.
71 f.

Orientador(a): José Geraldo Eugênio de França.
Co-orientador(a): Luciana Gonçalves de Oliveira.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal
Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica Serra
Talhada - UAST, Programa de Pós-Graduação em
Produção Vegetal , Serra Talhada, BR-PE, 2025.

Inclui referências.

1. Recursos do germoplasma. 2. Evolução
fenotípica. 3. Cactos. I. França, José Geraldo Eugênio
de, orient. II. Oliveira, Luciana Gonçalves de,
coorient. III. Título

CDD 581.15

BIANCA PORFÍRIO MONTEIRO DE OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ACESSOS DE PALMA
FORRAGEIRA DOS GÊNEROS *Opuntia* e *Nopalea***

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

APROVADO em 24 / 02 / 2025

Banca Examinadora

Prof. Dr. José Geraldo Eugênio de França – UAST/UFRPE
Orientador

Prof. Dr. Adriano do Nascimento Simões – UAST/UFRPE
Examinador Interno

Dra. Luciana Gonçalves de Oliveira – IPA
Co-orientadora, Examinador Externo ao Programa

À minha filha, Maria Luísa, que traz luz e propósito à minha vida, e a todas as mulheres cientistas deste país, cuja dedicação e resiliência transformam o mundo. Que esta pesquisa celebre suas conquistas e inspire um futuro mais inclusivo, onde seu talento seja plenamente reconhecido e valorizado.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por me conceder coragem, sabedoria e resiliência para enfrentar os desafios ao longo da minha jornada, e por estar presente em todos os momentos, até mesmo nos "nãos" que a vida me trouxe.

Ao meu marido, Luís Carlos André, com quem tenho a sorte de compartilhar a profissão e a vida. Obrigada por ser meu braço direito e meu conforto nos momentos mais difíceis, sempre se mostrando um companheiro leal e amigo. A minha filha Maria Luísa, sua presença trouxe luz aos momentos mais desafiadores e me lembrou diariamente do propósito maior que me impulsionou a concluir este mestrado. Tudo que faço, faço também por você!

À minha família, pelo amor, incentivo e apoio incondicional, que foram o combustível para que eu seguisse firme em meio às turbulências. Em especial, à minha mãe, Maria Betânia, que nunca mediu esforços para me oferecer o melhor e sempre foi meu alicerce e inspiração de vida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da UFRPE-UAST, pela oportunidade de realizar este mestrado, principalmente ao corpo docente do programa, pela troca de experiências e por todo o conhecimento compartilhado nestes dois anos, e ao Instituto Agrônômico de Pernambuco, unidade experimental de Arcoverde e sede no Recife, pela infraestrutura e suporte indispensáveis à realização deste trabalho.

Ao meu orientador Dr. José Geraldo Eugenio, pela orientação e oportunidade de desenvolver este projeto, juntamente com pesquisador Djalma Cordeiro, o qual tive a oportunidade de conviver e aprender sobre a cultura da Palma Forrageira.

Em especial agradeço a Dra. Luciana Gonçalves, por ser um exemplo de pesquisadora, mãe e amiga, seus ensinamentos sobre a vida, pesquisa e coorientação foram fundamentais para a finalização deste ciclo. Ao Dr. Antônio Félix e todo seu grupo de pesquisa, o qual me acolheu e contribuiu significativamente para a realização das análises moleculares, a minha eterna gratidão.

Aos meus amigos de mestrado, que direta e indiretamente me ajudaram dia após dia, tornando essa caminhada um pouco mais leve e divertida, onde me promoveram momentos que ficaram guardados em minha memória, principalmente Rodrigo, Jheiny, Nerissa, David, Lucas, Marcos, Ângela, Leonardo e Jandis, por todo suporte científico e emocional durante o desenvolvimento deste trabalho. À Mariana, Bruna, Sabrina e Felipe, obrigada pela amizade construída, vocês tornaram os momentos difíceis no Recife mais suportáveis, trazendo alegria, apoio e carinho. Aos todos meus colegas de Pensionato Estudantil, obrigada por cada por cada conversa, risada e gesto de companheirismo.

Aos meus colegas de grupo de pesquisa pela ajuda na coleta e elaboração dos dados: Lara, Mateus e Tânia, especialmente minhas amigas Natália e Iara, que foram fundamentais em diversas etapas desta pesquisa, sempre trazendo palavras de conforto e compartilhando as dificuldades e alegrias.

Ao órgão de fomento, FACEPE, pela bolsa, e à fundação DryGrow, pelo custeio das despesas na condução do experimento. E a todos que de alguma forma me ajudaram na realização desta pesquisa e na finalização deste ciclo.

Muito Obrigada!

Porque dele, e por meio dele, e para ele são todas as coisas. A ele seja a glória para sempre.

(Romanos 11:36)

RESUMO

O crescimento da palma no semiárido brasileiro é impulsionado devido aos seus recursos forrageiros valiosos, como alta produtividade de biomassa, menor vulnerabilidade climática e adaptações essenciais para sobreviver em ambientes áridos e semiáridos. No entanto, ainda há lacunas do conhecimento de suas características estruturais, funcionais e genéticas que possam vir influenciar sua produtividade. A caracterização do germoplasma, por meio da análise de características hereditárias em diferentes ambientes, é crucial para criar catálogos para manejo e promover avanços no melhoramento genético vegetal. O presente estudo tem como objetivo caracterizar morfológicamente e avaliar diferentes métodos de extração de DNA em acessos de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* do Banco Ativo de Germoplasma do IPA. O experimento foi conduzido na cidade de Arcoverde – PE, onde avaliou-se 80 acessos de palma, com base nas características morfológicas da planta, de acordo com os descritores da cultura. A extração de DNA dos acessos foi realizada utilizando três metodologias distintas: (a) tampão de extração contendo brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), (b) kit comercial de extração de DNA e (c) método químico com o reagente Trizol. Após a extração, as amostras foram submetidas à PCR utilizando dez pares de marcadores de sequência simples (SSR). Os resultados morfológicos sugerem uma variabilidade significativa nos gêneros estudados. No caso de *Nopalea*, a PCA explicou 72% da variabilidade dos dados, separando os acessos em três grupos bem definidos. Enquanto para *Opuntia*, a PCA explicou 40,1% da variabilidade, distribuindo os acessos em oito grupos, evidenciando padrões claro de agrupamento. Os resultados da análise molecular, por sua vez, não foram satisfatórios, uma vez que não foi possível amplificar o DNA dos acessos. Apesar disto, o método de extração de DNA utilizando Trizol, mostrou-se eficiente para quantidade de DNA extraído. Desta forma, os acessos de *Nopalea* apresentaram estrutura fenotípica mais homogênea, enquanto os de *Opuntia* exibiram maior diversidade. As 15 características morfológicas utilizadas foram eficazes na discriminação dos acessos, refletindo a relação entre variabilidade morfológica e estrutura genética. A análise de caracteres quantitativos pode revelar padrões fenotípicos associados a grupos genéticos e adaptação local. O protocolo com Trizol foi o mais eficiente na extração de DNA, com melhores índices de pureza. Contudo, a razão A260/A230 inferior a 2,0 indicou contaminantes, comprometendo a PCR.

Palavras-chave: Recursos Genéticos; Variabilidade Fenotípica; Material Genético; Cactaceae

ABSTRACT

The growth of forage cactus in the Brazilian semi-arid region is driven by its valuable forage resources, such as high biomass productivity, lower climatic vulnerability, and essential adaptations to survive in arid and semi-arid environments. However, there are still gaps in the knowledge of its structural, functional, and genetic characteristics that may influence its productivity. Germplasm characterization, through the analysis of hereditary characteristics in different environments, is crucial for creating catalogs for management and promoting advances in plant genetic improvement. The present study aims to morphologically characterize and evaluate different DNA extraction methods in forage cactus accessions of the genera *Opuntia* and *Nopalea* from the Active Germplasm Bank of IPA. The experiment was conducted in the city of Arcoverde – PE, where 80 cactus accessions were evaluated based on the plant's morphological characteristics, according to the crop descriptors. DNA extraction from the accessions was performed using three distinct methodologies: (a) extraction buffer containing cetyltrimethylammonium bromide (CTAB), (b) commercial DNA extraction kit, and (c) chemical method with the Trizol reagent. After extraction, the samples were subjected to PCR using ten pairs of simple sequence repeat (SSR) markers. The morphological results suggest significant variability in the studied genera. In the case of *Nopalea*, PCA explained 72% of the data variability, separating the accessions into three well-defined groups. While for *Opuntia*, PCA explained 40.1% of the variability, distributing the accessions into eight groups, evidencing clear grouping patterns. The results of the molecular analysis, in turn, were not satisfactory, as it was not possible to amplify the DNA of the accessions. Despite this, the DNA extraction method using Trizol proved efficient for the quantity of DNA extracted. Thus, the *Nopalea* accessions showed a more homogeneous phenotypic structure, while the *Opuntia* accessions exhibited greater diversity. The 15 morphological characteristics used were effective in discriminating the accessions, reflecting the relationship between morphological variability and genetic structure. The analysis of quantitative characters can reveal phenotypic patterns associated with genetic groups and local adaptation. The protocol with Trizol was the most efficient in DNA extraction, with better purity indices. However, the A260/A230 ratio below 2.0 indicated contaminants, compromising the PCR.

Keywords: Genetic Resources; Phenotypic Variability; Genetic Material; Cactaceae

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Mapa de localização da área do experimento Caracterização Fenotípica de Acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Palma Forrageira, na estação experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco-IPA em Arcoverde, Pernambuco, Brasil, 2025.....	28
Figura 2	Croqui do ensaio experimental dos acessos Palma Forrageira, provenientes do BAG da Estação Experimental de Arcoverde do Instituto Agrônomo de Pernambuco em Arcoverde, Pernambuco, Brasil.....	29
Figura 3	Precipitação, Temperatura e Umidade durante o período experimental no BAG da Estação Experimental de Arcoverde do Instituto Agrônomo de Pernambuco em Arcoverde, Pernambuco, Brasil, 2024.....	30
Figura 4	Características morfológicas relacionadas à altura de planta (A) e largura de planta (B), avaliadas nos 80 acessos de palma, 70 do gênero <i>Opuntia</i> e 10 do gênero <i>Nopalea</i> . Arcoverde - PE, Brasil, 2023-2024.....	34
Figura 5	Características morfológicas relacionadas ao cladódio referente ao seu comprimento, largura e espessura (A e B) e mensuração do diâmetro do fruto (C), avaliadas nos 80 acessos de palma, 70 do gênero <i>Opuntia</i> e 10 do gênero <i>Nopalea</i> . Arcoverde - PE, Brasil, 2023-2024.....	34
Figura 6	Características morfológicas relacionadas ao Hábito de Crescimento: A- Rasteiro, B- Estendido e C- Ereto, e Coloração das Flores, avaliadas nos 80 acessos de palma, 70 do gênero <i>Opuntia</i> e 10 do gênero <i>Nopalea</i> . Arcoverde - PE, Brasil, 2023-2024.....	35
Figura 7	Características morfológicas relacionadas a forma do cladódio: A - Obovada, B- Orbicular e C- Espatulada, avaliadas nos 80 acessos de palma, 70 do gênero <i>Opuntia</i> e 10 do gênero <i>Nopalea</i> . Arcoverde - PE, Brasil, 2023-2024.....	35
Figura 8	Processo de assepsia das raízes de palma forrageira. Recife-PE, Brasil, 2024.....	36
Figura 9	Processo de maceração das raízes de Palma Forrageira. Recife-PE, Brasil, 2024.....	37

Figura 10	Isolamento de DNA pelo Protocolo Doyle & e Doyle (A); Kit de Extração da Norgen (B) e Protocolo Trizol (C). Recife-PE, Brasil, 2024.....	37
Figura 11	Matriz de Correlação de Pearson em relação as características morfológicas de acessos de palma forrageira (<i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i>): Altura da Planta (ALT); Largura da Planta (LAG); Hábito de Crescimento (HBC); Forma do Cladódio (FC); Curvatura (CVT); Número de Aréolas no Cladódio (NA); Total de Cladódios (TC); Comprimento Médio do Cladódio (CMC); Largura Média do Cladódio (LMC); Espessura Média do Cladódio (EMC); Número de Espinhos (NE); Número de Flores (NFL); Coloração das Flores (CFL); Número de Frutos (NFRT) e Diâmetro do Fruto (DMF). Arcoverde - PE, Brasil, 2023-2024.....	43
Figura 12	Biplot dos Componentes Principais (PC1 e PC2) apresentando a dispersão dos 10 acessos de <i>Nopalea</i> para as variáveis estudadas: Altura da Planta (ALT); Largura da Planta (LAG); Hábito de Crescimento (HBC); Forma do Cladódio (FC); Curvatura (CVT); Número de Aréolas no Cladódio (NA); Total de Cladódios (TC); Comprimento Médio do Cladódio (CMC); Largura Média do Cladódio (LMC); Espessura Média do Cladódio (EMC); Número de Espinhos (NE); Número de Flores (NFL); Coloração das Flores (CFL); Número de Frutos (NFRT) e Diâmetro do Fruto (DMF). Arcoverde - PE, Brasil, 2023-2024.....	45
Figura 13	Biplot dos Componentes Principais (PC1) e (PC2) apresentando a dispersão dos 70 acessos de <i>Opuntia</i> para as variáveis estudadas: Altura da Planta (ALT); Largura da Planta (LAG); Hábito de Crescimento (HBC); Forma do Cladódio (FC); Curvatura (CVT); Número de Aréolas no Cladódio (NA); Total de Cladódios (TC); Comprimento Médio do Cladódio (CMC); Largura Média do Cladódio (LMC); Espessura Média do Cladódio (EMC); Número de Espinhos (NE); Número de Flores (NFL); Coloração das Flores (CFL); Número de Frutos (NFRT) e Diâmetro do Fruto (DMF). Arcoverde - PE, Brasil, 2023-2024.....	46
Figura 14	Dendrograma do Gênero <i>Nopalea</i> com 10 acessos de palma forrageira obtidos pelo método UPGMA com base nas 15 características morfológicas estudadas.....	47

Figura 15	Dendrograma do Gênero <i>Opuntia</i> com 70 acessos de palma forrageira obtidos pelo método UPGMA com base nas 15 características morfológicas estudadas.....	48
Figura 16	Gel de agarose dos produtos de PCR obtidos por eletroforese a partir do DNA genômico extraído de 80 amostras de tecido de Palma Forrageira utilizando o protocolo de extração de Trizol.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Acessos de Palma Forrageira do BAG/IPA em Arcoverde – PE, Brasil, avaliados no experimento Caracterização Fenotípica de Acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Palma Forrageira. 2023-2024.....	30
Tabela 2	Marcadores de repetição de sequência simples (SSR) usados para analisar a diversidade de 80 acessos de Palma Forrageira. 2024.....	39
Tabela 3	Caracterização Morfológica de Acessos de <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> do BAG/IPA, para as características de Altura da Planta (ALT); Largura da Planta (LAG); Hábito de Crescimento (HBC); Forma do Cladódio (FC); Curvatura (CVT); Número de Aréolas no Cladódio (NA); Total de Cladódios (TC); Comprimento Médio do Cladódio (CMC); Largura Média do Cladódio (LMC); Espessura Média do Cladódio (EMC); Número de Espinhos (NE); Número de Flores (NFL); Coloração das Flores (CFL); Número de Frutos (NFRT) e Diâmetro do Fruto (DMF). Arcoverde – PE, Brasil, 2023-2024.....	41
Tabela 4	Quantificação e Grau de Pureza do DNA obtido por diferentes métodos de extração: Kit comercial da Norgen Biotek; Protocolo Doyle e Doyle (1987) e Protocolo de Extração com Trizol. Recife-PE, Brasil, 2024.....	49

Sumário

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 PALMA FORRAGEIRA.....	18
2.2 RECURSOS GENÉTICOS	20
2.3 CARACTERIZAÇÃO DO GERMOPLASMA VEGETAL.....	21
2.3.1 Métodos de Extração de DNA em Plantas	24
2.4 MELHORAMENTO GENÉTICO VEGETAL DA PALMA FORRAGEIRA	25
3. OBJETIVOS	27
3.1 GERAL.....	27
3.2 ESPECÍFICOS	27
4. MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 ÁREA DE ESTUDO	27
4.2 DESIGN E TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS.....	28
4.3 PROCEDIMENTOS DE CONDUÇÃO EXPERIMENTAL	29
4.4 AVALIAÇÕES MORFOLÓGICAS	32
4.5 AVALIAÇÃO MOLECULAR	35
4.5.1 Coleta do material vegetal e assepsia	35
4.5.2 Extração e Quantificação do DNA Genômico	36
4.5.3 Amplificação das amostras de DNA	39
4.6 TRATAMENTOS DOS DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	40
5. RESULTADOS	40
5.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA	40
5.1.1 Matriz de Correlação de Pearson.....	42
5.1.2 Análise dos Componentes Principais	44
5.1.3 Análise de Cluster.....	46
5.2 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR.....	48
5.2.1 Amplificação por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).....	49
6. DISCUSSÃO	50
6.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA	50
6.2 EXTRAÇÃO DO DNA GENÔMICO EM PALMA FORRAGEIRA	55
7. CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

1. INTRODUÇÃO

A palma é uma espécie da pertencente à família Cactaceae, nativa do México e dispersa em diversos continentes. Ela abrange várias espécies dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, o qual são amplamente distribuídos em distintas regiões do mundo, especialmente em regiões áridas e semiáridas (JARDIM *et al.*, 2020; QUEIROZ *et al.*, 2015; XAVIER JUNIOR *et al.*, 2021). Esses gêneros se apresentam como uma opção viável e versátil para diversas finalidades produtivas, incluindo alimentação humana, indústria farmacêutica, geração de energia, conservação e restauração de solos, jardinagem e produção de forragem (AMARAL *et al.*, 2022; NUNES, 2011).

Uma das principais razões para a ampla distribuição da palma forrageira nos continentes é sua elevada capacidade adaptativa do ponto de vista anatômico, bioquímico e morfofisiológico. Essa espécie apresenta alta eficiência no uso da água devido a características como cutícula impermeável, pequeno número de estômatos e um aparato fotossintético altamente eficiente (LIMA *et al.*, 2018; XAVIER JUNIOR *et al.*, 2021). Seu maior diferencial é o Metabolismo Ácido das Crassuláceas, considerado essencial para o sucesso e sobrevivência em regiões de clima seco e de baixa precipitação (LEITE *et al.*, 2022).

Em programas de melhoramento genético, o conhecimento sobre a diversidade genética dentro de uma espécie é essencial para o uso racional de seus recursos genéticos. Esses estudos são fundamentados na análise de caracteres morfológicos, que podem ter natureza qualitativa ou quantitativa (ASHFAQ *et al.*, 2023; BORGES *et al.*, 2019; LAVIOLA *et al.*, 2010). Tradicionalmente, os descritores morfológicos são utilizados para avaliar acessos e sua diversidade genética. Embora sua expressão seja fortemente influenciada por fatores ambientais e práticas agrícolas, a caracterização morfológica é amplamente recomendada como etapa inicial antes da aplicação de marcadores moleculares em avaliações mais avançadas (GOMES FILHO *et al.*, 2010; NEFZAQUI *et al.*, 2019b).

Os relatos sobre os efeitos diretos e indiretos das características morfológicas e moleculares no polimorfismo genético e fenotípico da palma ainda são poucos e incipientes. Isso se deve à complexidade das interações entre fatores genéticos e ambientais, que exigem uma investigação mais aprofundada para serem plenamente compreendidas (BERED *et al.*, 1997; OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Análises com base em aspectos morfológicos, produtivos, fitossanitários e moleculares são essenciais para a identificação de genótipos com atributos desejáveis para o setor agropecuário, principalmente aqueles relacionados a elevada produtividade de biomassa,

ausência de espinhos, variação no teor de mucilagem e resistência a pragas e doenças (CUNHA, 2021; SILVA *et al.*, 2018).

A caracterização molecular do germoplasma vegetal emprega técnicas de marcadores moleculares para identificar variações hereditárias no DNA, utilizando o polimorfismo gerado para avaliar parâmetros genéticos que quantificam a diversidade genética dos acessos preservados (BUNJKAR *et al.*, 2024). Essas técnicas permitem a análise de diferentes regiões do genoma nuclear, cloroplástico e mitocondrial, proporcionando uma visão abrangente da variação genética. Além disso, a elevada precisão dessas técnicas possibilita a identificação de diferenças genéticas entre indivíduos, mesmo na ausência de divergências fenotípicas visíveis, ampliando o potencial para medir o polimorfismo entre os acessos de uma coleção (BUNJKAR *et al.*, 2024; NAM *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2018).

Nefzaoui *et al.* (2019a) e Nascimento *et al.* (2011), enfatizam a importância da caracterização morfológica e molecular de acessos de palma forrageira, pois essa análise permite distinguir variedades e espécies, sejam elas distintas espécies de *Opuntia* e *Nopalea* ou diferentes variedades dentro de uma mesma espécie. Essa distinção é crucial para a organização eficiente de coleções de germoplasma, evitando duplicações, além de fornecer informações essenciais para o rastreamento, troca de material genético e a realização de estudos futuros.

A preservação dos recursos genéticos de *Opuntia* e *Nopalea* requer um esforço conjunto entre pesquisa e conservação. A análise aprofundada dos impactos das mudanças climáticas e da domesticação sobre as características morfológicas e genéticas dessa cultura é fundamental para o desenvolvimento de estratégias mais eficazes de conservação e uso sustentável. Essas iniciativas são essenciais para ampliar o conhecimento sobre a diversidade biológica desses gêneros e garantir sua preservação a longo prazo (MOHAMED & SBAGHI, 2023; PEÑA-VALDIVIA *et al.*, 2008).

Esses esforços trazem benefícios significativos, como o desenvolvimento de cultivares mais produtivas e resilientes, contribuindo para a segurança alimentar em regiões áridas e semiáridas. Além disso, promovem a conservação da biodiversidade e o uso sustentável em sistemas agrícolas, gerando impactos positivos tanto na economia quanto na sociedade (SILVA *et al.*, 2020). Considerando a quase extinção da palma devido a pragas no passado e o papel fundamental do melhoramento genético em sua recuperação, torna-se evidente a crescente importância dos estudos voltados para a melhoria contínua da cultura, especialmente por meio do desenvolvimento de novas cultivares (CHEN, 2024).

Nesse contexto, hipotetiza-se que os acessos de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* apresentam elevada variabilidade fenotípica e genética, tanto dentro, quanto entre as

espécies estudadas. Com base na avaliação de características morfológicas e moleculares, acredita-se que seja possível identificar e distinguir esses acessos de forma eficiente.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 PALMA FORRAGEIRA

A família Cactaceae, abrange cerca de 178 gêneros e aproximadamente 2.000 espécies, distribuídas desde a América do Norte até a América do Sul. Essa família apresenta uma forte expressão econômica e social, caracterizando-se como uma das plantas forrageiras mais importantes do mundo, a qual encontra-se atualmente presente em todos os continentes (PADILHA JUNIOR *et al.*, 2016; SILVA & SANTOS, 2006; XAVIER JUNIOR *et al.*, 2021).

No Brasil, a produção de forragem concentra-se principalmente no semiárido nordestino, o qual tem como destaque os gêneros *Opuntia* e *Nopalea*. Originária do México, essa cultura foi introduzida no Brasil pelos portugueses no século XVII, mais precisamente no estado de Pernambuco, com o objetivo de servir como planta hospedeira para a produção do corante carmim, visto que, naquela época tinha um alto valor comercial (JARDIM *et al.*, 2021; JARDIM *et al.*, 2020; NUNES, 2011).

A região Nordeste do Brasil possui a maior área cultivada com palma forrageira no mundo, abrangendo cerca de 550 mil hectares, o que representa a maior parte da área plantada no país, estimada em aproximadamente 600 mil hectares (GARCETE-GÓMEZ *et al.*, 2017; MARQUES *et al.*, 2017; XAVIER JUNIOR *et al.*, 2021). Além disso, o Brasil se destaca na América do Sul pelo seu sistema de cultivo de palma forrageira, considerado o mais avançado, com um alto nível técnico e produtivo. Esse sistema intensivo possibilita que a produção de massa seca e fresca da cultura atinja os maiores índices do mundo (DUBEUX JÚNIOR *et al.*, 2017).

Estudos indicam que o cultivo da palma no semiárido brasileiro é impulsionado pela presença de valiosos recursos forrageiros, como a alta produtividade de biomassa por unidade de área e menores riscos devido à incerteza climática (DUBEUX JÚNIOR *et al.*, 2015). Para sobreviver em ambientes extremamente secos, a palma forrageira desenvolveu estratégias de adaptação que envolvem mudanças anatômicas, morfológicas, fisiológicas e bioquímicas. Essas mudanças permitem que a planta absorva água até mesmo das mais menores chuvas e minimize a perda de água, mantendo o turgor das células (OLIVEIRA *et al.*, 2010; XAVIER JUNIOR *et al.*, 2021).

As características morfológicas desta cultura incluem folhas pouco desenvolvidas, as quais se apresentam na forma de espinhos endurecidos e pontiagudos. Seu caule, é chamado de cladódio ou raquete, sendo volumoso, verde e achatado, podendo ser classificado em várias ordens, dependendo de sua disposição e crescimento (MARQUES *et al.*, 2017). Isso permite a produção de uma grande quantidade de cladódios, estruturas amplamente utilizadas para diversos fins (EPIFÂNIO, 2019). O cladódio plantado, responsável pela propagação clonal, enraizamento e suporte da planta, é conhecido como "cladódio basal". Já os cladódios de primeira ordem, que possuem maior superfície assimiladora, desempenham um papel essencial na sustentação da planta e na distribuição de nutrientes e água para os outros órgãos (PESSOA *et al.*, 2022; QUEIROZ *et al.*, 2015).

Em termos fisiológicos, a palma é capaz de realizar fotossíntese com grande eficiência, mesmo em condições de baixa umidade relativa do ar. Pois, a planta assimila CO₂ durante a noite, devido às restrições na disponibilidade de água e pressão ambiental, o que resulta no fechamento dos estômatos durante o dia, mantendo assim os tecidos hidratados, além de evitar a perda de CO₂ e vapor de água (KHODAEIAMINJAN; NASSRALLAH; KAMAL, 2021; PESSOA *et al.*, 2022). Inclusive, possui um sistema radicular bem desenvolvido, que lhe permite absorver água e nutrientes do solo com grande eficiência, contribuindo para sua capacidade de sobrevivência em regiões de seca e baixa umidade (ALMEIDA *et al.*, 2019; MARQUES *et al.*, 2017).

Além disso, a palma forrageira possui um alto valor energético em sua composição, com 66-74% de nutrientes digestíveis totais e 59-73% de carboidratos não fibrosos. Apresenta também uma elevada digestibilidade (69-78%) e uma grande capacidade de reserva hídrica (80% com base na matéria seca). Podendo ser incorporada na alimentação de ruminantes na forma de farelo desidratado, pastejo ou até mesmo picada (MAGALHÃES *et al.*, 2021; MARQUES *et al.*, 2017; SOARES; ALBUQUERQUE; SILVA, 2021).

Neste contexto, a palma surge como reserva forrageira utilizada na pecuária regional nordestina para alimentar o gado leiteiro durante a época de seca. Essa forrageira apresenta a maior produção de matéria fresca em comparação a outras plantas forrageiras e não precisa ser armazenada como silagem ou feno, mantendo seu valor nutritivo durante o período de estiagem (LIRA *et al.*, 2009; SILVA & SANTOS, 2006).

Conforme dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, no ano de 2017, o Brasil produz cerca de 3,6 milhões de toneladas de palma forrageira em 126.925 propriedades rurais. Desse total, 99,8% são provenientes da região Nordeste, além de áreas do Norte de Minas Gerais e Espírito Santo. Entre os principais Estados produtores, destacam-se

Sergipe, Alagoas, Rio Grande do Norte e Ceará, com Bahia liderando a produção (1,5 milhão de toneladas), seguida pela Paraíba (742 mil toneladas) e Pernambuco (481 mil toneladas) (IBGE, 2017)

A produtividade da palma forrageira é influenciada por diversos fatores, entre eles a fertilidade do solo, o manejo e a densidade de plantio. Aumentar o número de plantas por área pode ter impactos significativos na produção de biomassa e na concentração de nutrientes disponíveis (DANTAS NETO *et al.*, 2020). Isso ocorre porque, com o aumento da densidade de plantio, a competição por recursos como água, luz e nutrientes se intensifica. Por isso, é importante realizar um manejo adequado e garantir uma boa fertilidade do solo para maximizar a produtividade da palma forrageira (LIMA *et al.*, 2018; SOUZA *et al.*, 2017).

Desta forma, a relação entre meio ambiente, técnicas de manejo e as características genéticas das plantas afeta tanto a estrutura da palma forrageira, como o rendimento do cladódio (MATOS *et al.*, 2020). Por meio disso, faz-se necessário entender quais são os efeitos diretos e indiretos e a correlação existente entre produtividade e as características estruturais e funcionais da mesma, a fim de identificar quais são as possíveis características genéticas e morfofisiológicas que afetam a produção, uma vez que essa correlação se dá por meio de fatores genéticos e ambientais (DUBEUX *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2010).

2.2 RECURSOS GENÉTICOS

Recursos genéticos em plantas referem-se ao conjunto de materiais de origem vegetal que possuem valor real ou potencial para a agricultura, a alimentação e a preservação da biodiversidade. Isso inclui sementes, mudas, tecidos, DNA e qualquer outra parte da planta que contenha informação genética e possa ser utilizada para o melhoramento genético, conservação e adaptação de culturas a diferentes condições ambientais (COSTA; SPEHAR; SERENO, 2012).

Além disso, são fundamentais para selecionar e melhorar culturas agrícolas, oferecendo uma ampla gama de materiais genéticos, como variedades tradicionais de plantas cultivadas e seus parentes silvestres (HASAN; ABDULLAH, 2015; SANCHEZ *et al.*, 2023a). Esses recursos são valiosos também por fornecerem informações sobre genes específicos e suas funções (PRIYANKA *et al.*, 2021). Além disso, eles oferecem a variabilidade genética necessária para o desenvolvimento de novas cultivares e para a preservação e transmissão de características de interesse, como alta produtividade, maior qualidade nutricional e resistência

a estresses abióticos (como a seca) e bióticos (como o ataque de pragas e doenças) (PÁDUA; ALBUQUERQUE; MELLO, 2020).

As abordagens utilizadas para estudar esses recursos incluem a caracterização morfológica e molecular das plantas, a análise de marcadores genéticos e a análise de sequências de DNA (ALMEIDA *et al.*, 2019; SALGOTRA & ZARGAR, 2020; SILVA *et al.*, 2018). As atividades relacionadas aos recursos genéticos são compostas de quatro pontos importantes: enriquecimento, caracterização, conservação e documentação, sendo essenciais para otimizar o uso imediato do germoplasma (CARVALHO *et al.*, 2020; PRIYANKA *et al.*, 2021). Essas atividades têm se mostrado fundamentais, especialmente no desenvolvimento de cultivares mais produtivas, de qualidade superior e resistentes a doenças, além de contribuir para a conservação de recursos genéticos que correm risco de extinção e que poderão ser úteis para o desenvolvimento agrícola a longo prazo (KATNA; SOOD, 2015; YADAV *et al.*, 2024).

Para a conservação dos recursos genéticos em plantas, existem duas estratégias principais: a conservação *in situ*, que visa proteger os habitats naturais das plantas em seus locais de origem, e a conservação *ex situ*, que envolve a coleta, o armazenamento e o uso dos recursos genéticos em bancos de germoplasma (DAR *et al.*, 2020; LEDIG, 1986). Ambas as estratégias são essenciais para garantir a disponibilidade e a diversidade genética das plantas, bem como a preservação das espécies (PÁDUA *et al.*, 2020).

Nesse contexto, os bancos de germoplasma desempenham um papel crucial, pois são responsáveis por conservar o germoplasma e a informação genética presente em cada planta (ENGELS, 2003; SILVA *et al.*, 2018). Esse material genético é fundamental para promover o estudo da diversidade genética, a seleção de plantas, hibridação, alteração cromossômica e o uso de ferramentas de biotecnologia (BLACKBURN, 2018; NGUYEN; NORTON, 2020).

Ademais, a conservação e o uso sustentável dos recursos genéticos de plantas são essenciais para garantir a segurança alimentar e o desenvolvimento sustentável em todo o mundo (HASAN; ABDULLAH, 2015; MCCOUCH, 2004). Nos programas de melhoramento de plantas, informações sobre a diversidade genética dentro de uma espécie são fundamentais para o uso racional dos recursos genéticos, já que tais estudos se baseiam em caracteres morfológicos de natureza qualitativa ou quantitativa (LAVIOLA *et al.*, 2010).

2.3 CARACTERIZAÇÃO DO GERMOPLAMAS VEGETAL

A caracterização do germoplasma vegetal é essencial para fornecer dados sobre as características dos acessos, possibilitando sua classificação e estimativa da diversidade

genética. Este processo envolve a mensuração e documentação de características herdáveis das plantas, permitindo a identificação de variações genéticas e a seleção de genótipos desejáveis para programas de melhoramento (DUDHE *et al.*, 2020; SINGH *et al.*, 2016). Além de ampliar a visibilidade e agregar valor ao material biológico das coleções, a caracterização contribui para o avanço da pesquisa científica, tanto no âmbito nacional quanto internacional, e estimula o uso público das informações científicas (CASTRO *et al.*, 2022; NEFZAOU *et al.*, 2019a, 2019b).

Ferramentas como listas padronizadas de descritores para a caracterização de coleções de germoplasma e estoques de reprodução são cruciais para bancos de germoplasma e melhoristas, pois possibilitam a comparação de dados entre diferentes coleções e ensaios, utilizando um formato internacionalmente acordado (FIGÀS *et al.*, 2018). As atividades de caracterização do germoplasma abrangem aspectos agrônômicos, morfológicos, bioquímicos e moleculares, fundamentais para os programas de melhoramento. Esses aspectos permitem identificar genótipos promissores para uma variedade de usos, como alimentação, ornamentação, produção de fibras para a indústria têxtil e entre outras aplicações (CASTRO *et al.*, 2022).

A caracterização morfológica é realizada através da aplicação de descritores de plantas de várias espécies ou famílias botânicas, que são criados e/ou ajustados com base em espécies agrônômicas previamente estabelecidas (CASTRO *et al.*, 2022; NOSHITA *et al.*, 2022). Esse processo é fundamental para identificar características valiosas, como a tolerância a estresses bióticos e abióticos, alta produtividade e qualidade nutricional, que podem beneficiar o desenvolvimento nacional e regional (KHLESTKINA & CHUKHINA, 2020). Além disso, a caracterização morfológica auxilia na detecção de acessos duplicados e na estruturação de populações para fins de conservação (SANTOSO *et al.*, 2024).

A avaliação de diferentes acessos de palma foi considerada fundamental por Dev *et al.* (2024), uma vez que sua variação está diretamente relacionada às condições regionais, tornando essencial a identificação do acesso mais adequado para cada localidade. Além disso, conforme destacado por Marhri *et al.* (2024), o desempenho das espécies depende de sua adaptabilidade à diversidade agroecológica.

Estudos sobre a variação genética em coleções de germoplasma podem ser realizados com base em caracteres morfológicos, tanto qualitativos quanto quantitativos. Para isso, é possível utilizar diversos métodos, sendo a escolha desses métodos determinada pela precisão desejada pelo pesquisador, pela facilidade de análise e pela forma como os dados foram obtidos (CARVALHO *et al.*, 2003; LAVIOLA *et al.*, 2011).

A diversidade genética, essencial para o melhoramento das plantas, visto que, pode ser investigada por métodos fenotípicos e moleculares. A análise fenotípica baseia-se em características agrônômica e morfológicas, enquanto a variação molecular foca em sequências de DNA, possibilitando uma avaliação mais precisa e estável (AGRE *et al.*, 2019; FERREIRA *et al.*, 2007).

Nos últimos anos, houve um grande avanço no desenvolvimento de diversas técnicas químicas e moleculares voltadas para o estudo da diversidade genética. Enquanto os marcadores bioquímicos são amplamente empregados no diagnóstico de patógenos, os marcadores de DNA têm sido desenvolvidos e amplamente utilizados na identificação de espécies e populações, uma vez que se baseiam no genótipo do organismo, proporcionando maior estabilidade e menor influência de fatores ambientais (MONDINI & PAGNOTTA, 2015; NAM *et al.*, 2021). Essas ferramentas são essenciais para a preservação e manejo da diversidade genética, além de contribuir para a filogenia e evolução das espécies (MONDINI & PAGNOTTA, 2015; NAM *et al.*, 2021; SINGH & SINGH, 2015).

A elevada precisão das técnicas moleculares possibilita a identificação de diferenças genéticas entre indivíduos, mesmo na ausência de divergências fenotípicas visíveis, expandindo assim o potencial para medir o polimorfismo entre acessos de uma coleção (MERGULHÃO *et al.*, 2012a). Ferramentas de marcadores moleculares baseadas em PCR, como polimorfismos no comprimento de fragmentos de restrição (RFLPs), polimorfismos de DNA amplificado aleatoriamente (RAPD) e repetições de sequência simples (SSRs), são amplamente empregadas para detectar variações em sequências específicas de DNA. Com os avanços rápidos e contínuos na tecnologia de sequenciamento genômico, tornou-se viável obter e analisar as sequências de DNA de todo o genoma dos organismos estudados (NAM *et al.*, 2021; SINGH & SINGH, 2015).

Essas abordagens morfológicas e moleculares são particularmente importantes para a conservação e o melhoramento da palma forrageira. A caracterização genética da palma, realizada por meio de marcadores moleculares, permite a identificação de variações hereditárias e a avaliação de parâmetros genéticos que quantificam a diversidade genética dos acessos preservados. Técnicas como o sequenciamento de DNA têm ampliado o alcance desses estudos, possibilitando a análise do genoma de toda a coleção (SILVA *et al.*, 2018; FERREIRA *et al.*, 2007). Ao focar na diversidade genética da palma forrageira, é possível identificar genótipos com características desejáveis, como alta produtividade, resistência a doenças e pragas, e ausência de espinhos, fundamentais para o melhoramento da cultura (CUNHA, 2021).

Nesse contexto, a caracterização do germoplasma de espécies de *Opuntia* e *Nopalea* torna-se um passo essencial para a seleção de genótipos mais produtivos e adaptáveis ao uso forrageiro. A análise morfológica e molecular dessas plantas permite a identificação da variabilidade genética, essencial para a conservação e o manejo sustentável dessas cactáceas, além de favorecer programas de melhoramento genético para regiões áridas e semiáridas (DEV *et al.*, 2024; NEFZAOU *et al.*, 2019a; OMAR *et al.*, 2021). A preservação e o uso eficiente da diversidade genética da palma forrageira são fundamentais para garantir a segurança alimentar e o desenvolvimento sustentável das comunidades que dependem dessa forrageira para sua subsistência (ALMEIDA *et al.*, 2022; SILVA *et al.*, 2020).

2.3.1 Métodos de Extração de DNA em Plantas

O sucesso de qualquer análise molecular, a extração de DNA genômico puro e de boa qualidade é essencial. Apesar da variedade de metodologias disponíveis para o isolamento de DNA de plantas, a prática demonstra que esses procedimentos são frequentemente empíricos, dada a considerável variabilidade na composição dos tecidos vegetais. Consequentemente, métodos convencionais de extração de DNA, embora simples, podem apresentar limitações de reprodutibilidade entre diferentes espécies, exigindo adaptações e modificações para otimizar a obtenção de DNA adequado (KANG *et al.*, 2023; LI; PARRIS; SASKI, 2020).

Essas dificuldades são amplamente atribuídas à variabilidade nos níveis de polissacarídeos, polifenóis e outros metabólitos secundários presentes em diferentes espécies vegetais. Tais compostos atuam como interferentes no processo de purificação do DNA, comprometendo sua utilização em análises moleculares subsequentes. A semelhança estrutural entre esses componentes vegetais e os ácidos nucleicos facilita a interferência dos metabólitos secundários e polissacarídeos no isolamento do DNA total (ABOUL-MAATY; ORABY, 2019).

Diversos métodos tentaram resolver esses desafios, mas frequentemente esses métodos dependem de longos tempos de incubação tanto durante a lise inicial do tecido quanto posteriormente para a precipitação do DNA com álcool, adicionando tempo considerável ao processo. Mesmo após a obtenção de DNA suficiente, a remoção adicional de compostos contaminantes às vezes é necessária (MAVRODIEV *et al.*, 2021). Os protocolos de extração de DNA baseados em brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) são, em sua maioria, especificamente adaptados para atender à composição bioquímica única de cada espécie vegetal (ABOUL-MAATY; ORABY, 2019; WANG *et al.*, 2012).

Kits comerciais de extração de DNA como o DNeasy Plant Mini e o Kit da Qiagen são populares na pesquisa vegetal pela conveniência e produção de DNA de alta pureza para análises moleculares, facilitando o uso e reduzindo o tempo de processamento, especialmente em laboratórios com alto volume ou foco em aplicações sensíveis; contudo, seu custo elevado por extração pode ser limitante para grandes estudos, e em plantas ricas em compostos secundários complexos, podem não oferecer o mesmo rendimento de DNA total que métodos personalizados otimizados para a bioquímica específica da planta (ABDEL-LATIF; OSMAN, 2017; MARINČEK; WAGNER; TOMASELLO, 2022).

Entre os métodos inovadores para extração de DNA em plantas, destacam-se o método enzimático, que emprega carboidrases para a completa digestão das paredes celulares, demonstrando eficácia em diversas espécies e potencial para automação em aplicações de alto rendimento (MANEN *et al.*, 2005); o método de extração com líquidos iônicos, que promove a lise celular e a remoção do DNA de maneira rápida e com mínima manipulação, dispensando etapas adicionais de purificação (SILVA *et al.*, 2023). Métodos baseados em TRIzol, particularmente quando combinados com reagentes e técnicas complementares. Essa abordagem robusta oferece adaptabilidade para diversas espécies vegetais, tornando-se uma ferramenta valiosa para facilitar estudos genéticos e moleculares, principalmente voltados para extração de RNA e DNA (JORDON-THADEN *et al.*, 2015; MENG; FELDMAN, 2010).

2.4 MELHORAMENTO GENÉTICO VEGETAL DA PALMA FORRAGEIRA

O melhoramento de plantas surgiu com o início da agricultura. Na verdade, é difícil afirmar se a agricultura incentivou os primeiros agricultores a melhorar as plantas, ou se ambos evoluíram simultaneamente, com o objetivo de aprimorar a qualidade e a produtividade das culturas domesticadas pelos humanos (BORÉM; MIRANDA; FRITSCHÉ-NETO, 2021; RANJITHKUMAR *et al.*, 2022). A base primordial de qualquer programa de melhoramento genético começa com o banco de germoplasma. O principal objetivo desses bancos é resgatar populações que se extinguíram, preservar importantes características biológicas ou espécies que correm risco de extinção (SACHS, 2009; SEHGAL *et al.*, 2015).

Para que o melhoramento genético seja efetivo, é essencial que esteja fundamentado em bases genéticas sólidas, especialmente quando a espécie já foi aprimorada em certo grau e há recursos limitados, como área geográfica e pessoal técnico/científico (OLIVEIRA, 2011; SANCHEZ *et al.*, 2023b). A identificação, com base em valores fenotípicos, dos indivíduos

com valores genotípicos desejáveis e a maior concentração de alelos favoráveis, é crucial para alcançar o sucesso em um programa de melhoramento (CRUZ, 2005; OLIVEIRA, 2011).

O processo de melhoramento genético da palma forrageira desempenha um papel crucial em todas as suas etapas, desde a escolha dos genitores e dos métodos de cruzamento até a seleção dos indivíduos resultantes e a seleção clonal nas fases subsequentes. Nas etapas finais, os clones são validados em diferentes ambientes de produção, permitindo a identificação dos indivíduos com alto valor genético (PAIXÃO *et al.*, 2011). Para isso, cruzamentos e autopolinizações controladas, realizados por meio da manipulação floral, são comuns. Esses métodos visam manter uma ampla variedade genética disponível para uso futuro, incluindo a pesquisa e o desenvolvimento de forragem de qualidade semelhante às variedades cultivadas (ALMEIDA *et al.*, 2022; ALMEIDA; SOUZA; BATISTA, 2019).

Além disso, entre as técnicas moleculares utilizadas para caracterizar a palma forrageira, o uso de marcadores moleculares contribui para a compreensão da variabilidade genética da espécie, identificando polimorfismos genéticos e permitindo a avaliação da redundância e das deficiências nas coleções de germoplasma (MERGULHÃO *et al.*, 2012).

O programa de melhoramento da palma forrageira, quando comparado aos de culturas de maior importância econômica, ainda é bastante incipiente. No entanto, atualmente existem diversos programas dedicados a essa cactácea em várias partes do mundo, com diferentes objetivos de pesquisa, inclusive forrageiro (SANTOS *et al.*, 2005). Países como Itália, Estados Unidos, México e Brasil têm desenvolvido programas de melhoramento genético para a cultura da palma (MONDRAGÓNS; CHESSA, 2018). Nas últimas décadas, genótipos de germoplasma de cactos provenientes de colônias silvestres, pomares, cercas, jardins, campos agrícolas e plantações comerciais têm sido conservados em instituições no México, com o objetivo de analisar a variação fenotípica e genética, visando à conservação da espécie e ao desenvolvimento de variedades melhoradas (PEÑA-VALDIVIA *et al.*, 2008).

O Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), no Brasil, tem um longo histórico de pesquisa na área da palma forrageira, conduzindo estudos há mais de seis décadas. Suas pesquisas abrangem desde a conservação dos recursos genéticos (manutenção do Banco Ativo de Germoplasma) e o melhoramento genético da palma forrageira até a avaliação de seu valor nutritivo como alimento para animais (ALVES & SANTOS, 2024). Em parceria com a Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), o instituto preserva, de forma *in vivo*, mais de 1.169 acessos, composta por clones resultantes de cruzamentos e seleção, além de espécies coletadas em diversas regiões do Brasil e do mundo. Essa coleção tem como objetivo

ampliar a oferta de cultivares mais produtivas e adaptadas a diferentes condições de cultivo (MACÊDO *et al.*, 2020).

Contudo, o Banco Ativo de Germoplasma (BAG) do IPA ainda não está completamente caracterizado e catalogado em sua plenitude, o que dificulta a utilização de seus acessos nos programas de melhoramento. Isso ocorre principalmente porque ainda se sabe pouco sobre a complexidade e diversidade morfológica do BAG. Vale ressaltar que a relação entre o ambiente, as técnicas de manejo e as características genéticas e morfológicas afeta tanto a estrutura da planta quanto o rendimento do cladódio (MATOS *et al.*, 2020).

Desta forma, a compreensão da distribuição da variabilidade genética entre as diferentes variedades, aliada à identificação de genótipos promissores por meio de análises morfológicas e moleculares, contribui para acelerar o processo de melhoramento genético, permitindo a adaptação da cultura às novas demandas ambientais e climáticas. (ALMEIDA *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2020).

3. OBJETIVOS

3.1 GERAL

Caracterizar morfológicamente e molecularmente 80 acessos de palma dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* provenientes do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Palma Forrageira da Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA).

3.2 ESPECÍFICOS

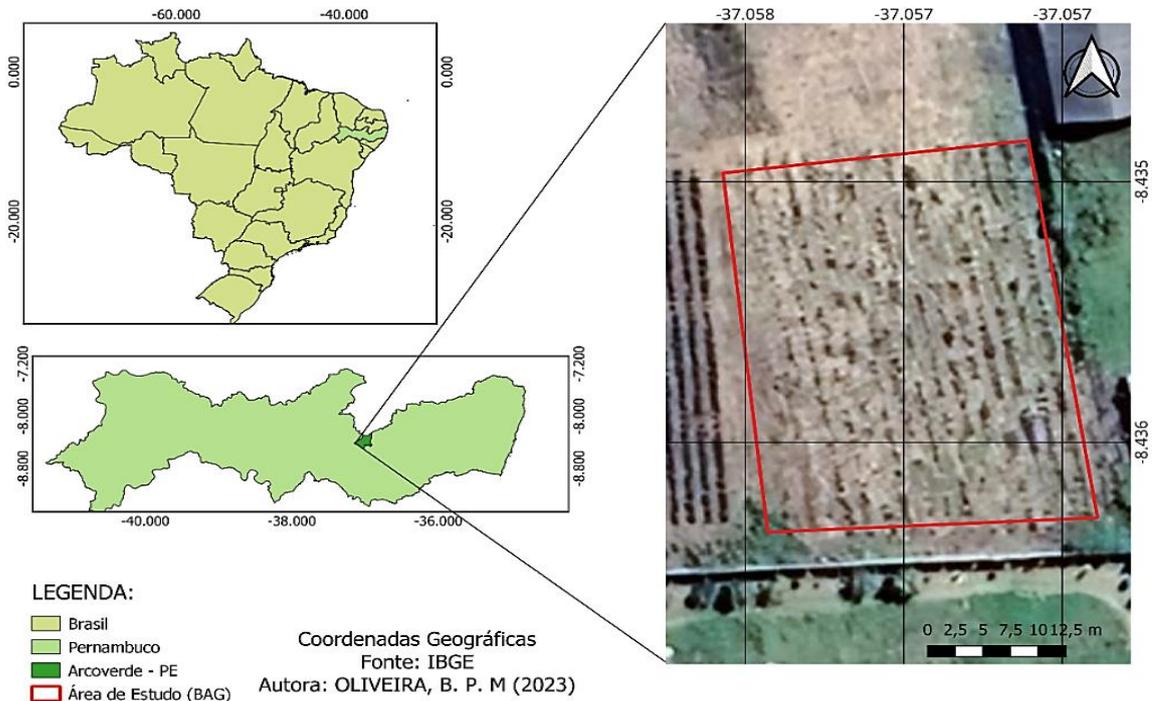
- Caracterizar e descrever morfológicamente 80 acessos de Palma Forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* do BAG-IPA através de caracteres fenotípicos;
- Caracterizar e descrever molecularmente 80 acessos de Palma Forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* do BAG-IPA através dos marcadores moleculares SSR;
- Identificar variações e particularidades que contribuam para a caracterização do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) do IPA;
- Alimentar os dados morfológicos e moleculares na base de dados do Banco de Germoplasma da Palma Forrageira dos Sistema Nacional de Recursos Genéticos (SisGen).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ÁREA DE ESTUDO

O estudo foi desenvolvido no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Palma Forrageira, instalado, *in vivo*, na Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA (Figura 1), localizada no município de Arcoverde, transição entre o Agreste e o Sertão de Pernambucano, Brasil, com latitude de: 8°25'15'' S e longitude de: 37°03'41'' O, em uma altitude de cerca de 664 metros. A região apresenta precipitação pluvial média de cerca de 798,1 mm, sua classificação quanto ao clima é de tropical semiárido, com temperatura média em torno dos 22,9 °C e umidade relativa do ar de 69,6% (INMET - INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA, 2024).

Figura 1. Mapa de localização da área do experimento Caracterização Fenotípica de Acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Palma Forrageira, na estação experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco-IPA em Arcoverde, Pernambuco, Brasil, 2025.



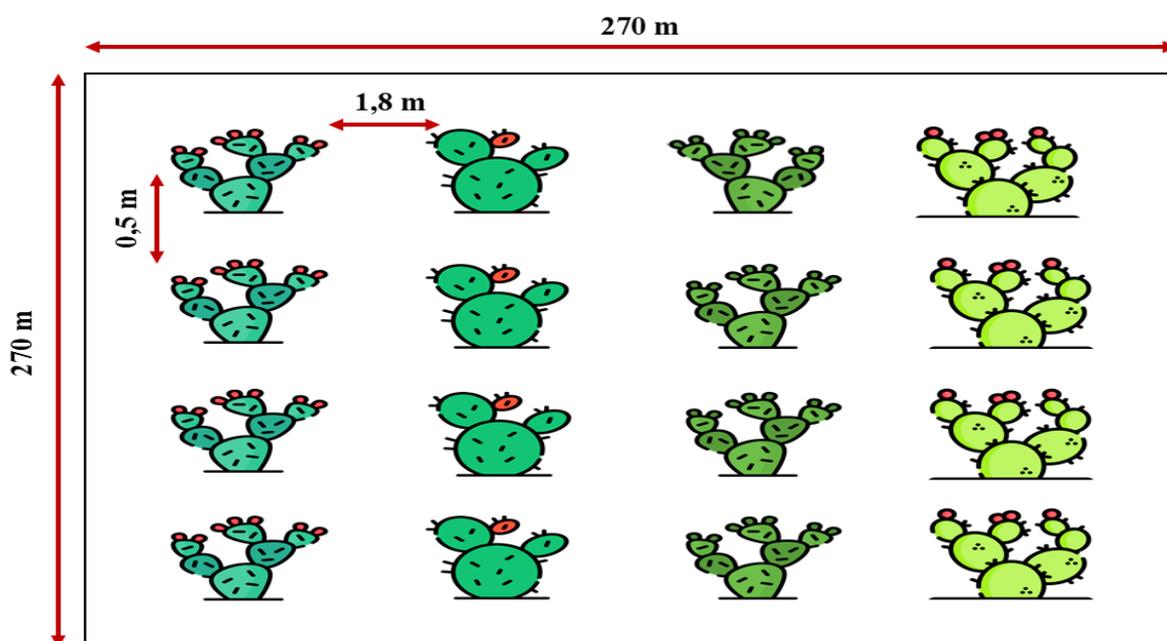
O solo predominante na área é o Neossolo Regolítico Eutrófico Solódico com textura franco arenosa, com relevo que varia de plano e suavemente ondulado (SANTOS *et al.*, 2018). Situada na BR 232, km 253, a estação experimental do IPA é voltada principalmente para pesquisas relacionadas ao melhoramento genético da palma forrageira e à criação de animais 100% puro sintético da raça Girolando.

4.2 DESIGN E TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS

Durante o experimento, o BAG apresentava uma área total de 540 m², com 290 acessos de palma forrageira, sendo 261 do gênero *Opuntia* e 29 do gênero *Nopalea* para fins forrageiros, mais 82 do gênero *Opuntia* como frutífera. Cada acesso era composto por quatro plantas representativas, que se encontravam dispostas em espaçamento de 1,8m entre fileiras e 0,5m entre plantas, independente do gênero.

O designer experimental adotado foi em arranjo individualizado, no qual cada planta, representou um acesso único de palma forrageira, constituindo uma unidade experimental isolada sem repetição (Figura 2), onde utilizou-se de análise de estatística não paramétrica.

Figura 2. Croqui do ensaio experimental dos acessos Palma Forrageira, provenientes do BAG da Estação Experimental de Arcoverde do Instituto Agrônomo de Pernambuco em Arcoverde, Pernambuco, Brasil, 2024.



Fonte: Autora, 2015

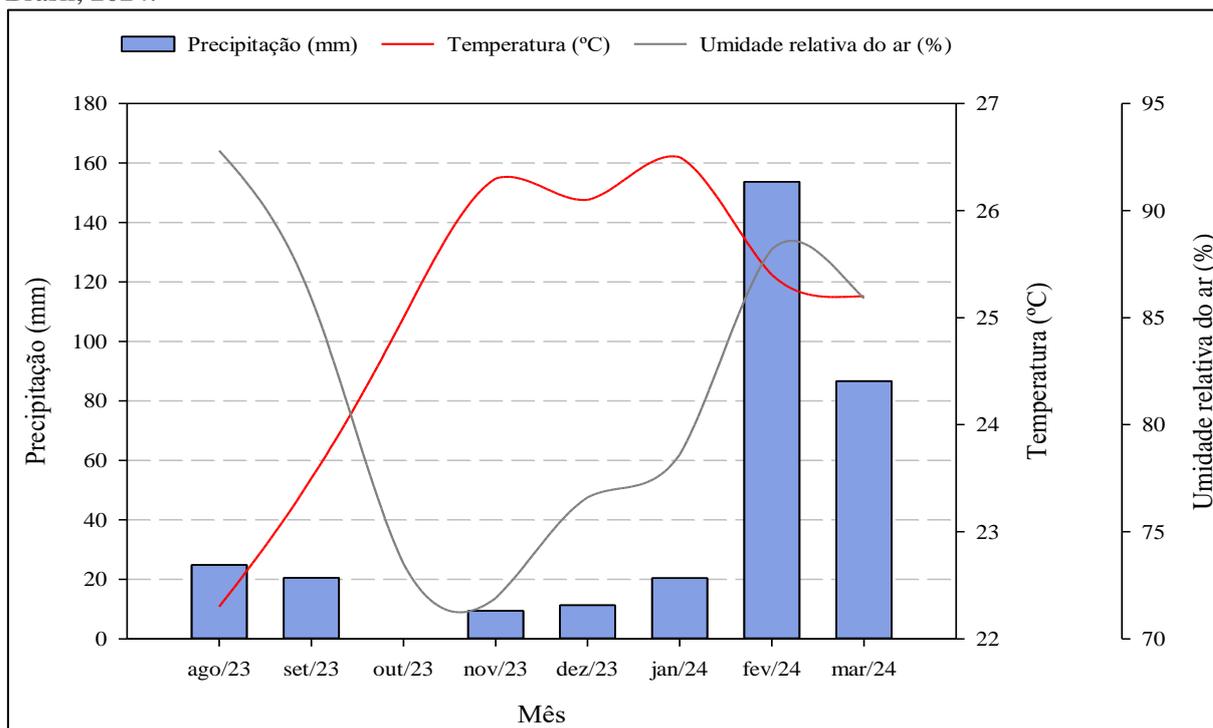
4.3 PROCEDIMENTOS DE CONDUÇÃO EXPERIMENTAL

O BAG é conservado de maneira *in vivo*, no qual as plantas estão dispostas em sistema de sequeiro, enumeradas com piquetes a partir da identificação de cada acesso. Os principais tratamentos culturais, consistem no controle de plantas invasoras, fazendo-se uso do controle mecânico por meio de capina manual, enquanto o controle de pragas, é realizado a partir da limpeza individual das plantas com uso de escovas em cada acesso que seja suscetível ao ataque da cochonilha do carmim (*Dactylopius opuntiae*) e cochonilha de escama (*Diaspis echinocacti*).

A implantação do BAG foi realizada no ano de 2022, não sendo realizado nenhum manejo de corte. As avaliações morfológicas foram realizadas em duas épocas, no início de

agosto de 2023 e posteriormente em março de 2024, onde foram avaliados 80 acessos com 24 meses de idade, sendo 70 do gênero *Opuntia* e 10 do gênero *Nopalea* (Tabela 1). Durante o período experimental, considerou-se as condições meteorológicas como precipitação, temperatura e umidade, segundo dados do INMET 2023 e 2024 (Figura 3).

Figura 3. Precipitação, temperatura e umidade durante o período experimental no BAG da Estação Experimental de Arcoverde do Instituto Agrônomo de Pernambuco em Arcoverde, Pernambuco, Brasil, 2024.



Fonte: INMET (2023- 2024).

Tabela 1. Acessos de Palma Forrageira do BAG/IPA em Arcoverde – PE, Brasil, avaliados no experimento Caracterização Fenotípica de Acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Palma Forrageira. 2023-2024.

Nº do Acesso no BAG	Nome	Gênero	Origem	Nº do Acesso no BAG	Nome	Gênero	Origem
08	Redon. X O.E.M IPA 16 C1	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil	83	IPA-98/T30F1	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil
14	Liso Forrageiro	<i>Opuntia</i>	FAM México	86	IPA-98/T27F3	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil
15	Blanco San Pedro (F24)	<i>Opuntia</i>	FAM México	91	IPA (Jeska) – C14	<i>Nopalea</i>	IPA- Brasil

16	O.E.A. IPA 15 C6	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil	96	IPA (Jeska) – C18	<i>Nopalea</i>	IPA- Brasil
17	Politlán (F9)	<i>Opuntia</i>	UACH- Mexico	99	IPA-98/T6F5	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil
19	Copena V1 (F2)	<i>Opuntia</i>	UACH- Mexico	100	Orelha de Elefante Mexicana (Variedade)	<i>Opuntia</i>	México
20	Atlixco (F4)	<i>Opuntia</i>	UACH- Mexico	101	Amarillo Milpa Alta (s)	<i>Opuntia</i>	USA
21	F21 Melhorada IPA 15-21	<i>Nopalea</i>	IPA- Brasil	107	IPA-98/T37F6	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil
22	Copena F1	<i>Opuntia</i>	UACH- Mexico	114	IPA (Jeska) – C19	<i>Nopalea</i>	IPA- Brasil
23	F8 Melhorada IPA 15-C8	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil	122	IPA (Jeska) – C21	<i>Nopalea</i>	IPA- Brasil
24	Tobarito (F6)	<i>Opuntia</i>	UACH- Mexico	125	IPA (Jeska) – C23	<i>Nopalea</i>	IPA- Brasil
25	Blanco Michoacán (F8)	<i>Opuntia</i>	UACH- Mexico	129	V-19 Clone 8	<i>Nopalea</i>	IPA- Brasil
26	IPA 90-73	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil	133	IPA-98/T43F6	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil
31	Redonda	<i>Opuntia</i>	IPA/ México	136	Chile Fruit Melhorada	<i>Opuntia</i>	México
33	IPA 90-92	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil	138	IPA-98/T6F6	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil
34	IPA 90-18	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil	142	IPA-98/T24F6	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil
35	Algerian	<i>Opuntia</i>	México	148	IPA-98/T27F7	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil
36	Gigante	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil	149	IPA-98/T22F7	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil
38	IPA 90-155	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil	161	IPA-98/T35F10	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil
39	IPA 94 – Clone 20	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil	170	IPA-98/T18F8	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil
40	IPA 90-75	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil	173	IPA-98/T33F8	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil
41	IPA 90-106	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil	174	IPA-98/T35F8	<i>Opuntia</i>	IPA- Brasil

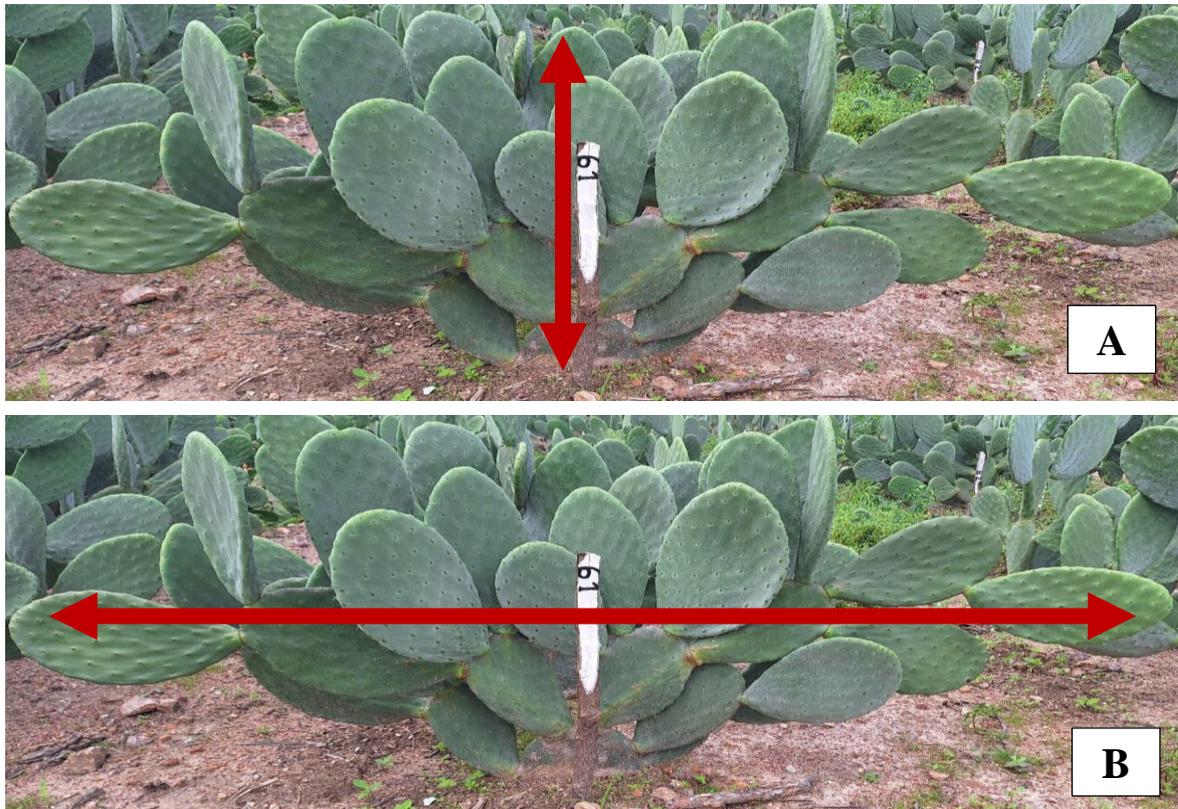
42	IPA 90-111	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil	180	IPA-98/T31F5	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil
43	IPA 94 – Doce Miúda	<i>Nopalea</i>	IPA-Brasil	183	IPA-98/T13F5	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil
45	IPA 90-156	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil	186	IPA-98/T33F9	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil
48	Orelha de Elefante Mexicana (F16)	<i>Opuntia</i>	México	188	IPA-98/T61F11	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil
50	Blanco San Pedro (V19)	<i>Opuntia</i>	México	190	IPA-98/T26F11	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil
51	Chile Fruit / 1317	<i>Opuntia</i>	USA	195	IPA-98/T30F3	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil
53	O.E.M Melhorada IPA 14 C2	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil	197	IPA-98/T53F3	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil
58	IPA-98/T20F4	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil	205	IPA-98/T12F6	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil
59	Orelha de Onça	<i>Nopalea</i>	Brasil	228	IPA-98/T16F11	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil
60	IPA 98/T8F2	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil	250	IPA-98/T25F11	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil
61	IPA-98/T33F2	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil	276	Chilean/1313	<i>Opuntia</i>	USA
63	O.E.M Melhorada IPA-14 C3	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil	277	Marmillon Fodder/1311	<i>Opuntia</i>	USA
64	IPA-98/T7F2	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil	280	IPA-98/T3F2	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil
65	IPA-98/T12F2	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil	282	IPA-98/T28F1	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil
66	IPA-98/T27F4	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil	283	IPA-98/T22F6	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil
76	O.E.M Melhorada IPA-14 C1	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil	295	Copena V1	<i>Opuntia</i>	UACH México
78	IPA-98/T12F1	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil	301	Nopalea Uruapan	<i>Nopalea</i>	México
81	IPA-98/T25F1	<i>Opuntia</i>	IPA-Brasil	304	Liso M. Aleman (V23)	<i>Opuntia</i>	México

4.4 AVALIAÇÕES MORFOLÓGICAS

Para a realização da coleta de dados referente a caracterização morfológica dos 80 acessos foi utilizada a metodologia descrita pelo Manual Gráfico para Descrição de Variedade Nopal Tunero e Xoconostle (*Opuntia spp.*) (GALLEGOS-VÁZQUEZ *et al.*, 2005). As caracteres morfológicas utilizadas para avaliação das plantas foram: a) número de cladódios totais por planta (TC); b) altura da planta (ALT, cm); c) largura da planta (LAG, cm); d) hábito de crescimento (HBC, rasteiro, ereto, estendido); f) número de frutos (NFRT); g) diâmetro do fruto (DMF, cm), h) número de flores (NFL), e i) coloração das flores (CFL, i.e., amarelo esverdeado, amarelo, marrom amarelado, laranja, laranja avermelhado). Quanto aos parâmetros morfológicos destinados ao cladódio avaliou-se: a) comprimento médio do cladódio (CMC, cm); b) largura do cladódio (LMC, cm); c) espessura do cladódio (EMC, cm); d) forma do cladódio (FC, orbicular, obovada ou espatulada); e) curvatura do cladódio (CVT, presença ou ausência); f) número de aréolas no cladódio (NA) e j) número de espinhos por aréolas (NE).

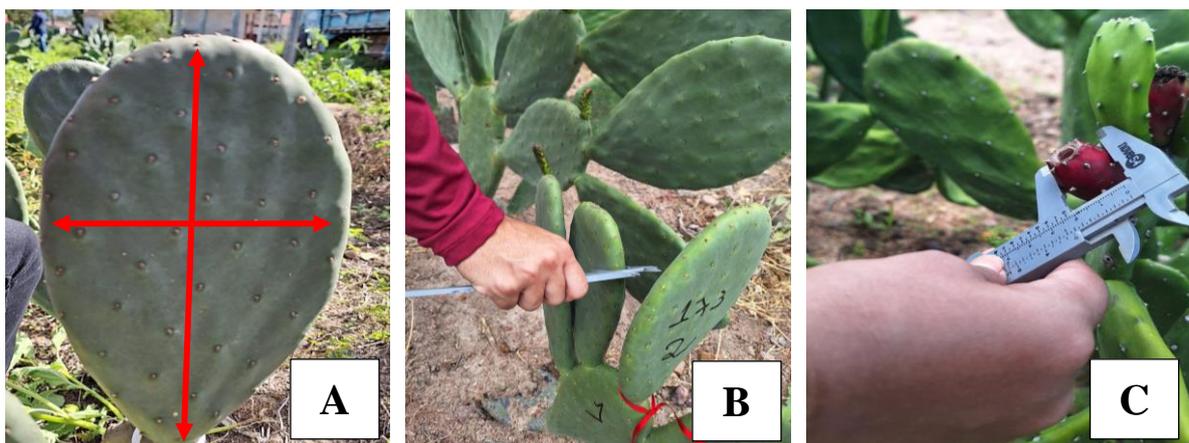
Além disso, a altura foi mensurada com auxílio de uma fita métrica, medindo-se rente ao solo até o cladódio mais alto, a largura foi medida utilizando-se como referência o sentido leste – oeste da planta. Para mensuração da largura e comprimento de cladódios utilizou-se de uma fita métrica e para aferição da espessura do cladódio e diâmetro do fruto o paquímetro (Figura 4 e 5) Os dados referentes as mensurações do cladódio foram coletadas com base nos valores obtidos em um cladódio selecionado aleatoriamente de cada ordem presente na planta. Posteriormente, realizou-se uma média dos valores coletados, a fim de trazer uma maior representação da planta em relação aos seus cladódios.

Figura 4. Características morfológicas relacionadas à altura de planta (A) e largura de planta (B), avaliadas nos 80 acessos de palma, 70 do gênero *Opuntia* e 10 do gênero *Nopalea*. Arcoverde - PE, Brasil, 2023-2024.



Fonte: Autora, 2025

Figura 5. Características morfológicas relacionadas ao cladódio referente ao seu comprimento, largura e espessura (A e B) e mensuração do diâmetro do fruto (C), avaliadas nos 80 acessos de palma, 70 do gênero *Opuntia* e 10 do gênero *Nopalea*. Arcoverde - PE, Brasil, 2023-2024.

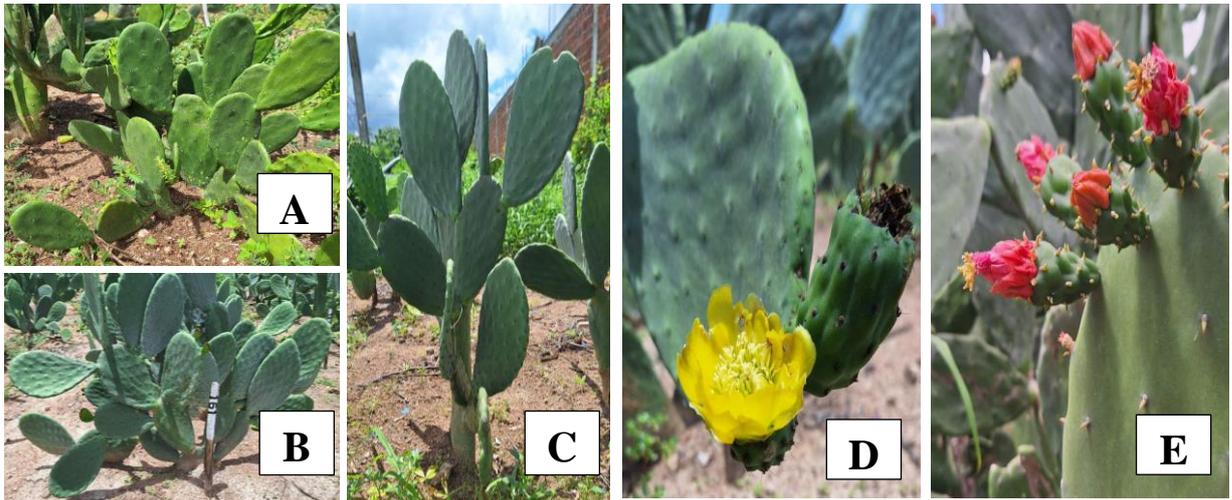


Fonte: Autora, 2025

Para as avaliações referente a número de cladódios, frutos, flores, aréolas e espinhos foram realizados através do método de contagem. As variáveis referentes ao hábito de

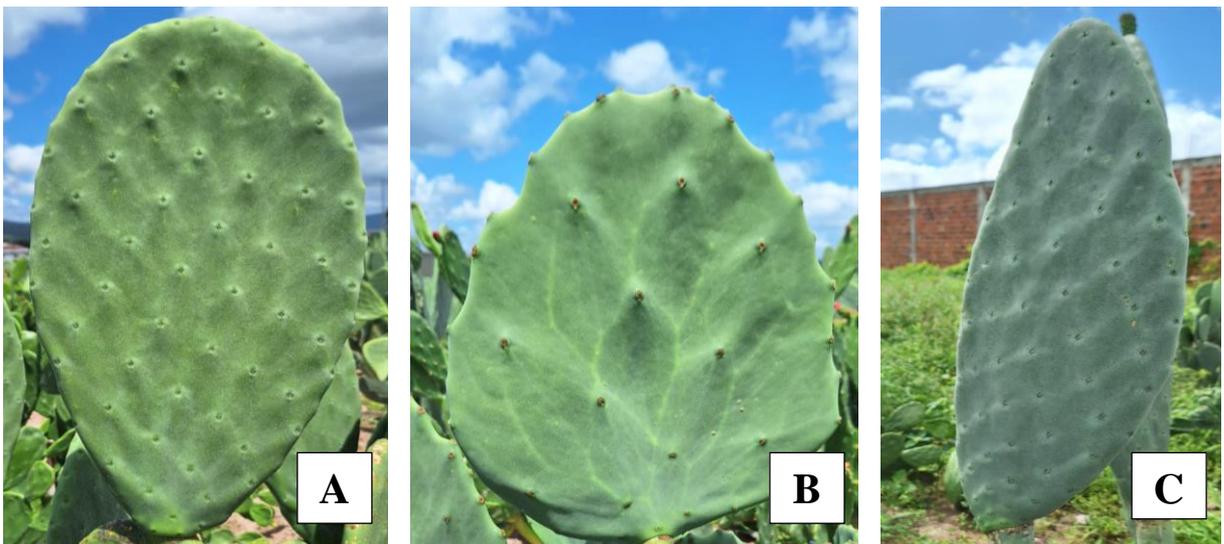
crescimento, curvatura, forma do cladódio e coloração das flores foram avaliadas a partir observação visuais conforme descrito por Gallegos-Vázquez et al. (2005), (Figura 6 e 7).

Figura 6. Características morfológicas relacionadas ao Hábito de Crescimento: A- Rasteiro, B- Estendido e C- Ereto, e Coloração das Flores (D- Amarelo e E- Laranja Avermelhado), avaliadas nos 80 acessos de palma, 70 do gênero *Opuntia* e 10 do gênero *Nopalea*. Arcoverde - PE, Brasil, 2023-2024.



Fonte: Autora, 2025.

Figura 7. Características morfológicas relacionadas a forma do cladódio: A - Obovada, B- Orbicular e C- Espatulada, avaliadas nos 80 acessos de palma, 70 do gênero *Opuntia* e 10 do gênero *Nopalea*. Arcoverde - PE, Brasil, 2023-2024.



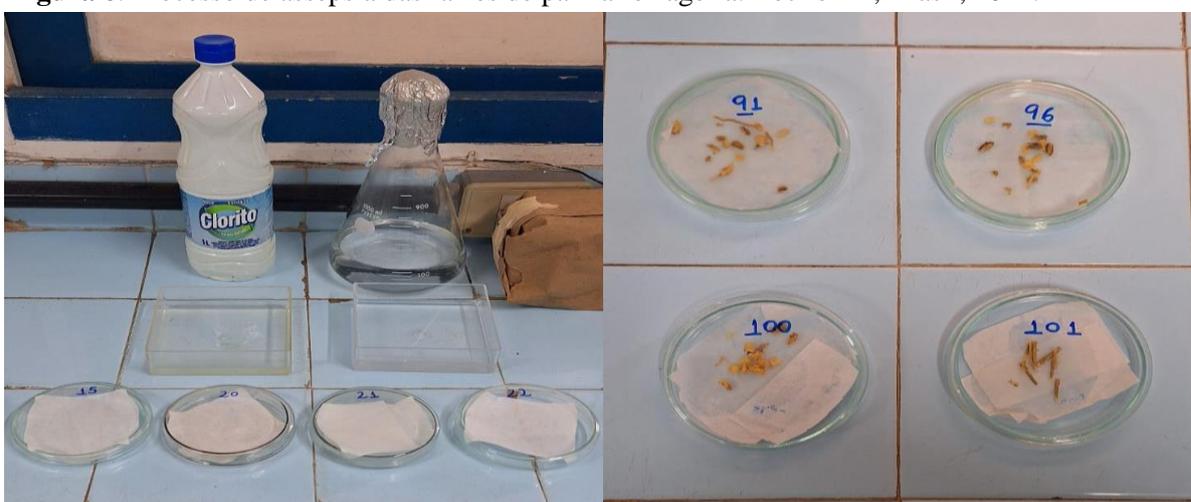
Fonte: Autora, 2025.

4.5 AVALIAÇÃO MOLECULAR

4.5.1 Coleta do material vegetal e assepsia

Para a realização das análises moleculares foram coletadas raízes de 80 acessos de palma forrageira provenientes do BAG de Arcoverde – PE, no qual foram colocados em sacos de papel e identificados com base em seu código de cadastro no IPA e seu número de identificação no BAG em campo. Em seguida, as raízes foram levadas a sede do IPA em Recife – PE, onde foram submetidas a um processo de assepsia pela imersão em solução de hipoclorito de sódio 2%, por 3 minutos, lavados por três vezes em água destilada esterilizada, segundo as recomendações de Mergulhão et al. (2012), (Figura 8). Após o processo de assepsia, as raízes foram mantidas em estufa a 60°C por um período de 48 horas.

Figura 8. Processo de assepsia das raízes de palma forrageira. Recife-PE, Brasil, 2024.



Fonte: Autora, 2025.

4.5.2 Extração e Quantificação do DNA Genômico

A extração do DNA genômico foi realizada utilizando três técnicas distintas, sendo elas: 1) Kit de extração de DNA comercial da Norgen Biotek, seguindo as recomendações do fabricante; 2) Protocolo de extração de DNA de plantas de Doyle & Doyle (1987); e por fim 3) Protocolo de isolamento de DNA com Trizol Invitrogen™. O processo de extração consistiu das seguintes etapas:

- *Lise das amostras e Precipitação do DNA*

Todas as amostras foram maceradas em nitrogênio líquido, onde o pó obtido da maceração foi colocado em tubos tipo eppendorf de 1,5-2mL (Figura 9), e posteriormente foram adicionados os reagentes de acordo com cada protocolo, para a metodologia proposta por Doyle & Doyle (1987) utilizou-se o CTAB acrescentado de b-mercaptoetanol, enquanto o Kit de extração de DNA Norgen Biotek foi utilizado os reagentes disponibilizados pelo próprio

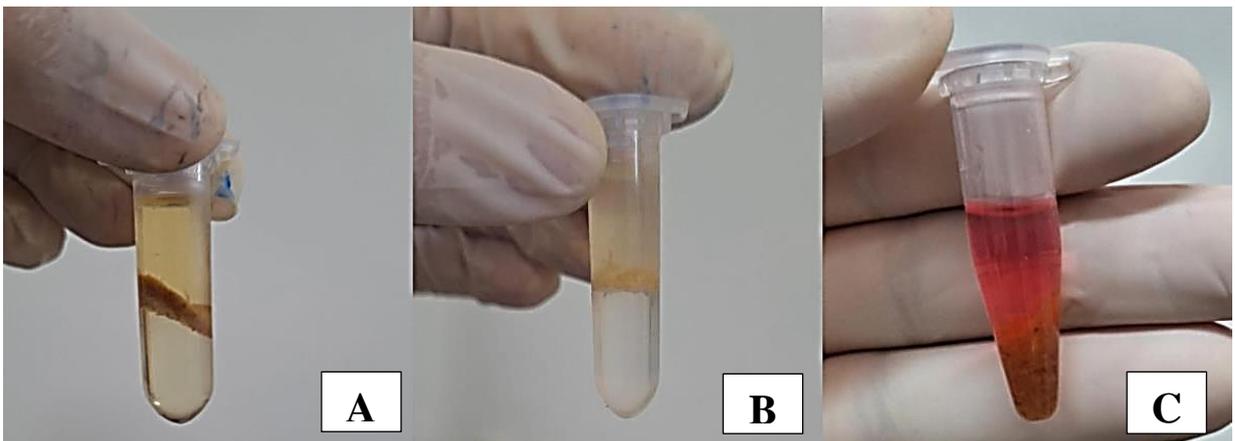
fabricante, e por fim, foi feita a extração de DNA utilizando o reagente Trizol Invitrogen™, todos passaram pelo processo de homogeneização do lisado, seguidos para a etapa centrifugação (Figura 10).

Figura 9. Processo de maceração das raízes de Palma Forrageira. Recife-PE, Brasil, 2024.



Fonte: Autora, 2025.

Figura 10. Isolamento de DNA pelo Protocolo Doyle & e Doyle (A); Kit de Extração da Norgen Biotek (B) e Protocolo Trizol (C). Recife-PE, Brasil, 2024.



Fonte: Autora, 2025.

- *Limpeza do DNA*

Pelo protocolo Doyle & e Doyle (1987) esta etapa consiste da incubação da solução a 65°C por 10min, onde tubos foram suavemente invertidos a cada 3 min. Posteriormente, foram adicionados 900µL de clorofórmio-isoamílico (24: 1), em seguida as amostras foram então

centrifugadas por 10 min a 14.000 rpm por min, onde posteriormente foram alíquotas 600/700µL do sobrenadante, o qual foi transferido para novos tubos e adicionado novamente de 900µL de clorofórmio isoamílico (24:1). As amostras foram então centrifugadas por 10 min a 14.000 rpm.

Para a limpeza pelo Kit da Norgen Biotek, a solução de lavagem foi disponibilizada pelo fabricante, a qual foi centrifugada por 1 a 10.000rpm por min junto com o sobrenadante da etapa anterior, está etapa foi repetida duas vezes e finalizada com o giro de 2 min por 14.000 rpm para secar completamente a resina no tubo de eppendorf.

Com o protocolo utilizando Trizol Invitrogen™ o pellet foi ressuspendido em 1 mL de citrato de sódio 0,1 M em etanol a 10%, pH 8,5, por 1 mL de reagente usado paralise (Trizol), logo a após o mesmo foi incubado durante 30 minutos, misturando ocasionalmente por inversão suave, em seguida o mesmo foi centrifugado durante 5 minutos a $2000 \times g$ a 4°C, onde houve o descarte o sobrenadante com micropipetador, etapa essa repetida por duas vezes, por fim foi realizado mais uma centrifugar com duração de 5 minutos a $2000 \times g$ a 4°C, seguida do descarte o sobrenadante com micropipetador e secagem ao ar o pellet de DNA por 5 – 10 min.

- *Eluição do DNA*

Para eluição do DNA pelo Kit da Norgen Biotek, foi adicionado o tampão de eluição disponibilizado pelo fabricante, onde o mesmo foi incubado por 1 min em temperatura ambiente, após este processo o mesmo foi centrifugado durante 1 min a 10.000 rpm, foi observado um volume eluido (DNA), foi armazenado em uma temperatura de 2-8°C por alguns dias.

Para o protocolo de Doyle e Doyle (1987) a solução líquida foi então liberada, DNA pellet lavado com 700 µL de etanol 70% para eliminar resíduos de sal aderidos ao DNA e centrifugado por 10 min a 14.000 rpm. Em seguida, o mesmo foi colocado para secar por aproximadamente, 1:30/2h, com os tubos invertidos sob papel de filtro, à temperatura ambiente, por fim o pellet foi então ressuspenso em 50 µL de água Mili-q ou água ultra pura e armazenada a -20°C.

Por fim, para o protocolo do Trizol Invitrogen™ foi realizado a ressusensão do pellet em 0,3–0,6 mL (300µL- 600µL) de NaOH 8 mM pipetando para cima e para baixo, seguido para centrifugação durante 10 minutos a $12.000 \times g$ a 4°C para remover materiais insolúveis.

A quantificação do DNA foi realizada pelo espectrofotômetro Nanodrop[®] (Thermofisher Scientific), em ng/uL, além de observar a pureza da amostra do DNA e a presença de proteínas, carboidratos e fenóis. Os valores de DNA acima de 100 ng/uL foram diluídos para 50 ng/uL

em água ultra pura esterilizada, para que fosse utilizado nas etapas posteriores. Além disto, também foi verificado os valores da razão A260/280 e A260/230, importantes para detecção da pureza e qualidade do DNA.

4.5.3 Amplificação das amostras de DNA

Para a amplificação por Reação em Cadeia da Polimerase-PCR, utilizou-se de 10 pares de marcadores SRR, conforme é apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Marcadores de repetição de sequência simples (SSR) usados para analisar a diversidade de 80 acessos de Palma Forrageira. 2024

Marcador	Primer Direto (5' – 3')	Primer Reverso (3'-5')
Opuntia 9	CTAGGCTTCATCCCACATTAGG	TCCAAATTCACCTCCTCTGC
Opuntia 12	TAATCTTATTCTCAGGTCAGTTAC	GGTATCTTGTTATTCGTTCCG
Opuntia 5	TATGCACAAAGCACCATGC	CCAACCATACCAACTGTACTGAC
Opuntia 11	CCTACACCTGCTGCCAATC	CGAGACAAACATCAGAGGAG
Opuntia 13	CCAAATACCCAGCCCATAC	CGAGAACCTAACTTCCGATG
Opuntia 3	GTGAGTGCCCAGATGAAACT	TCCTCAACTTTATTGTAGCAAGAG
Ops. 9	AACTGCCTCACACGAGTTCC	GCTACGAAATCTGCCGAGTC
Ops. 24	TCCTTCCATTTCCACCACAC	CAAGACCCCTCATTCCAAAG
Opufic 10	GGGCTTTCAACGATGCTG	TGAGGCTTTACATGGCACAC
Opufic 14	AATTGACCTCTTCACGTTATGC	GAGAAAGTGAGGCAGACAACG

Fonte: Erre et al. (2009) e Nefzaoui et al. (2019)

A amplificação por PCR, foi realizada para um volume final de 25 µL, sendo composto de 20 µL de Mix (tampão 1X + 0.2 mM dNTP's + 1 µM do primer + 1 U de DNA Taq polimerase + H₂O deionizada esterilizada) e 5 µL de DNA genômico (50 ng) da amostra. O ciclo de amplificação foi realizado em um termociclador, segundo as recomendações de Nefzaoui et al. (2019), com as seguintes temperaturas: um ciclo de 5 min a 94°C, seguido por 35 ciclos de 95°C por 1 min; 55°C por 1 min (a temperatura de anelamento foi ajustada de acordo com a temperatura de fusão dos primers) e 72°C por 1,5 min. O último ciclo foi seguido por uma incubação final a 72°C por 5 min e os produtos de PCR foram armazenados a 4°C antes da análise. Posteriormente, os possíveis fragmentos de DNA amplificados foram separados em gel de agarose a 2% em tampão TBE (tris base, ácido bórico e EDTA) em corrente elétrica de 80 V,

por aproximadamente 2 horas, corados em Sybr green-based do fabricante Thermo Fisher Scientific e visualizados em um transluminador UVA.

4.6 TRATAMENTOS DOS DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados morfológicos foram submetidos à análise de correlação a partir dos componentes principais de Pearson (PCA), seguidos da análise de Cluster multivariada com base no agrupamento hierárquico aglomerativo, utilizando-se o método UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages). Os dendrogramas foram criados a partir do pacote estatístico Multivariate Analysis, enquanto para a PCA, utilizou-se os pacotes Ggplot2 e Factoextra. Para realização destas análises utilizou-se o software estatístico Rstudio (R Core Team, 2019). Para os dados moleculares, foi realizado o teste de comparação de médias pelo Teste de Tukey a 5% de significância, com base nos valores obtidos na extração dos acessos.

5. RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA

A caracterização morfológica dos acessos de *Opuntia* e *Nopalea* revelou ampla diversidade entre as amostras, conforme descrito na Tabela 3. A altura das plantas variou de 10 cm a 171 cm, enquanto a largura oscilou entre 11 cm e 164 cm. O hábito de crescimento predominante foi o estendido, seguido do ereto, indicando um porte horizontal e vertical das plantas, enquanto o rasteiro foi menos frequente, possivelmente relacionado à adaptação a ambientes específicos. Os cladódios apresentaram maior frequência na forma obovada, predominante em grande parte dos acessos, enquanto as formas orbicular e espatulada, foram menos comuns. A curvatura dos cladódios variou entre reta e curvada, sendo predominante observado a presença de cladódios com ausência de curvatura e com número de aréolas registrado entre 0 e 130. O total de cladódios por planta variou de 1 a 67, com comprimentos de 2,4 cm a 26,5 cm, larguras de 1,6 cm a 22,75 cm e espessuras de 1,6 mm a 29,4 mm. O número de espinhos por cladódio foi baixo, variando de 0 a 3, enquanto a quantidade de flores por planta variou de 1 a 28, com coloração predominantemente laranja avermelhada, seguida de amarelo. Os frutos, por sua vez, apresentaram variação entre 0 e 13 por planta, com diâmetro médio de 21 mm a 50 mm (Tabela 3).

Tabela 3. Caracterização Morfológica de Acessos de *Opuntia* e *Nopalea* do BAG/IPA, para Altura da Planta (ALT); Largura da Planta (LAG); Hábito de Crescimento (HBC); Forma do Cladódio (FC); Curvatura (CVT); Número de Aréolas no Cladódio (NA); Total de Cladódios (TC); Comprimento Médio do Cladódio (CMC); Largura Média do Cladódio (LMC); Espessura Média do Cladódio (EMC); Número de Espinhos (NE); Número de Flores (NFL); Coloração das Flores (CFL); Número de Frutos (NFRT). Arcoverde – PE, Brasil, 2023-2024.

Nº DO ACESSO NO BAG	ALT	LAG	HBC	FC	CVT	NA	TC	CMC	LMC	EMC	NE	NFL	CFL	NFRT
8	64	120	ESTD	ORBC	Sim	43	31	13,2	11,8	17,2	1	0	-	0
14	47	11	ERT	OBVD	Não	83	3	6,8	4,6	22,4	1	0	-	0
15	75	85	ESTD	OBVD	Sim	65	25	10	8	12,6	1	0	-	0
16	61	90	ERT	OBVD	Não	70	5	17,2	8	13,8	1	0	-	0
17	74	67	ESTD	ORBC	Não	98	10	13	8,4	9	1	0	-	0
19	77	22	ERT	OBVD	Não	119	5	14,6	8,8	17,8	0	0	-	0
20	56	49	ERT	OBVD	Sim	52	16	7,5	4	10	1	0	-	0
21	73	96	ERT	OBVD	Não	0	33	13,4	6,4	9	0	7	LV	10
22	86	83	ESTD	OBVD	Sim	104	7	14,8	5,6	8	0	0	-	0
23	60	100	RAST	OBVD	Não	53	24	14,8	8	8	1	0	-	0
24	46	96	ERT	OBVD	Sim	72	6	6	3,2	13	1	0	-	0
25	50	59	ESTD	OBVD	Não	56	17	14,2	7,8	10,6	1	0	-	0
26	84	140	ESTD	ORBC	Não	105	12	18	9,4	15,6	2	0	-	1
31	65	80	ERT	OBVD	Não	82	10	9,2	7,4	10,4	2	0	-	7
33	71	87	ERT	ORBC	Não	118	11	15,6	9,4	13,6	1	0	-	0
34	13	113	ERT	ESPT	Não	103	16	24	17,2	21,4	3	0	-	0
35	141	16	ERT	OBVD	Não	88	6	22,4	10,1	29,4	0	0	-	0
36	104	118	ESTD	OBVD	Não	130	19	19	10,6	13,4	1	0	-	0
38	110	118	ERT	OBVD	Não	115	17	17	9,8	16,6	2	0	-	0
39	89	45	ESTD	OBVD	Não	106	9	13,6	7,8	10,2	1	0	-	0
40	73	82	ERT	OBVD	Não	99	10	10,8	4,6	12	1	0	-	0
41	109	115	ESTD	OBVD	Não	110	16	19,2	8,6	19,4	2	6	LV	2
42	72	104	ESTD	ORBC	Não	90	7	17,6	10	13,4	3	0	-	0
43	70	62	ESTD	ORBC	Sim	0	30	13,8	6,4	8,2	0	10	LV	12
45	74	107	ERT	ORBC	Não	82	13	11,4	5,4	11,6	2	0	-	0
48	83	128	ERT	ESPT	Não	54	30	26,5	22,75	16	1	0	-	0
50	59	42	ESTD	ESPT	Sim	70	6	11	9,2	18,4	1	0	-	0
51	67	66	ERT	OBVD	Não	75	8	16,4	6,4	21	1	0	-	0
53	58	79	ESTD	OBVD	Não	37	36	11	9,4	11	1	0	-	0
58	50	100	ESTD	ORBC	Sim	0	48	12,2	6,4	11,2	0	8	LV	7
59	35	70	ERT	OBVD	Não	30	12	8	7	8,6	0	0	-	0
60	73	68	ESTD	OBVD	Não	91	6	13,4	6	10,8	1	0	-	0
61	80	115	ESTD	ORBC	Sim	110	12	13,6	7	9,8	1	0	-	0
63	65	124	ESTD	OBVD	Não	67	25	16,6	15,2	7,6	1	0	-	0
64	49	104	ESTD	OBVD	Não	65	25	15,8	8	7,6	1	0	-	0
65	100	138	ESTD	OBVD	Não	90	18	17,8	9,2	12,4	1	0	-	0
66	35	70	ERT	OBVD	Não	30	12	8	7	8,6	0	0	-	0
76	52	77	ESTD	ORBC	Não	42	13	8,4	8,8	5,4	0	0	-	0
78	43	67	ESTD	OBVD	Não	100	10	7,6	4,7	7,4	1	0	-	0
81	81	103	ERT	OBVD	Não	63	10	13,2	7,4	12,25	1	0	-	0
83	26	14	ESTD	ESPT	Sim	0	1	3	1,8	1,8	0	0	-	1
86	93	126	ESTD	OBVD	Sim	100	11	17,6	10,6	14	2	0	-	4
91	10	127	ESTD	ESPT	Não	0	31	14,6	6,6	11,6	1	0	-	0

96	87	164	ESTD	ORBC	Não	0	60	21,2	8	16,8	0	25	LV	13
99	67	94	ERT	OBVD	Não	105	37	12	8,2	6	2	0	-	0
100	11	60	ERT	OBVD	Não	45	9	14,8	48,6	10,8	0	0	-	0
101	13	24	ESTD	OBVD	Sim	0	3	2,4	1,6	1,6	0	0	-	0
107	60	148	ESTD	OBVD	Sim	114	11	20	12,4	16,4	0	0	-	0
114	99	141	ESTD	OBVD	Não	78	19	17,4	11,4	18,6	1	28	LV	10
122	98	153	ERT	OBVD	Não	49	63	18,8	9,6	12,2	0	14	LV	1
125	80	160	ERT	OBVD	Não	38	67	20,4	11,2	18,6	0	4	LV	1
129	82	40	ESTD	ESPT	Sim	91	6	16,8	15,8	19,4	1	1	AML	0
133	100	155	ESTD	OBVD	Sim	105	16	21,2	13,3	13,4	2	0	-	0
136	50	27	ERT	ORBC	Não	102	3	10,6	6,4	7,6	1	0	-	0
138	70	66	ESTD	OBVD	Não	88	6	16,8	9,4	16	2	0	-	0
142	79	90	ERT	OBVD	Não	104	9	16,8	9	11,2	0	0	-	0
148	171	109	ERT	OBVD	Não	56	9	18,4	9,8	16,8	1	0	-	1
149	78	100	ERT	OBVD	Não	109	6	20,2	12,4	13,2	0	0	-	2
161	55	49	ESTD	OBVD	Não	84	8	8,2	9	7,4	1	0	-	0
170	100	120	ERT	OBVD	Não	90	9	17,2	11	14,6	0	0	-	1
173	59	49	ERT	OBVD	Não	0	6	10,6	5,2	11,2	0	0	-	0
174	80	98	ERT	OBVD	Não	98	14	18,8	10	15,4	1	0	-	0
180	70	90	ERT	OBVD	Não	74	7	17,4	10,8	13,6	1	0	-	1
183	70	90	ESTD	OBVD	Não	110	13	16,6	10,2	14	1	0	-	0
186	75	120	ESTD	OBVD	Não	0	11	19,4	10	16,8	1	2	AML	2
188	80	98	ESTD	OBVD	Não	0	8	20,4	10,8	12,6	1	0	-	0
190	80	90	ERT	OBVD	Sim	78	11	17,6	9,8	17,4	1	0	-	0
195	70	100	ERT	OBVD	Não	60	8	12,8	7	10,2	1	0	-	0
197	81	110	ERT	OBVD	Não	84	10	14,6	7,8	14,2	1	0	-	0
205	107	125	ESTD	OBVD	Não	89	13	18	11	18	1	0	-	0
228	70	147	ESTD	OBVD	Não	95	13	21,4	11,2	16,2	1	0	-	0
250	90	120	ESTD	OBVD	Não	104	17	19	10,6	19	1	0	-	1
276	86	75	ERT	ESPT	Sim	89	6	15,4	7,2	9,4	2	0	-	0
277	102	79	ERT	ESPT	Não	96	10	24,2	9,2	15	1	0	-	0
280	87	90	ERT	OBVD	Não	117	7	14,2	6,6	10,2	1	0	-	3
282	81	79	ERT	OBVD	Não	93	10	19,6	11,6	14	2	0	-	0
283	75	89	ESTD	OBVD	Não	73	10	11,6	6,4	9,6	1	0	-	0
295	40	35	ERT	OBVD	Não	76	3	8,4	5	8	1	0	-	0
301	30	59	ESTD	ESPT	Sim	33	22	8	3,6	4,6	0	0	-	0
304	33	37	ERT	OBVD	Não	98	2	5,8	4	2,6	2	0	-	2

Legenda:

ESTD – Estendido; **ERT** – Ereto; **RAST** – Rasteiro; **ORBC** – Orbicular; **OBVD** – Obovada; **ESPT** – Espatulada; **LV** - Laranja Avermelhado; **AML**- Amarelo.

5.1.1 Matriz de Correlação de Pearson

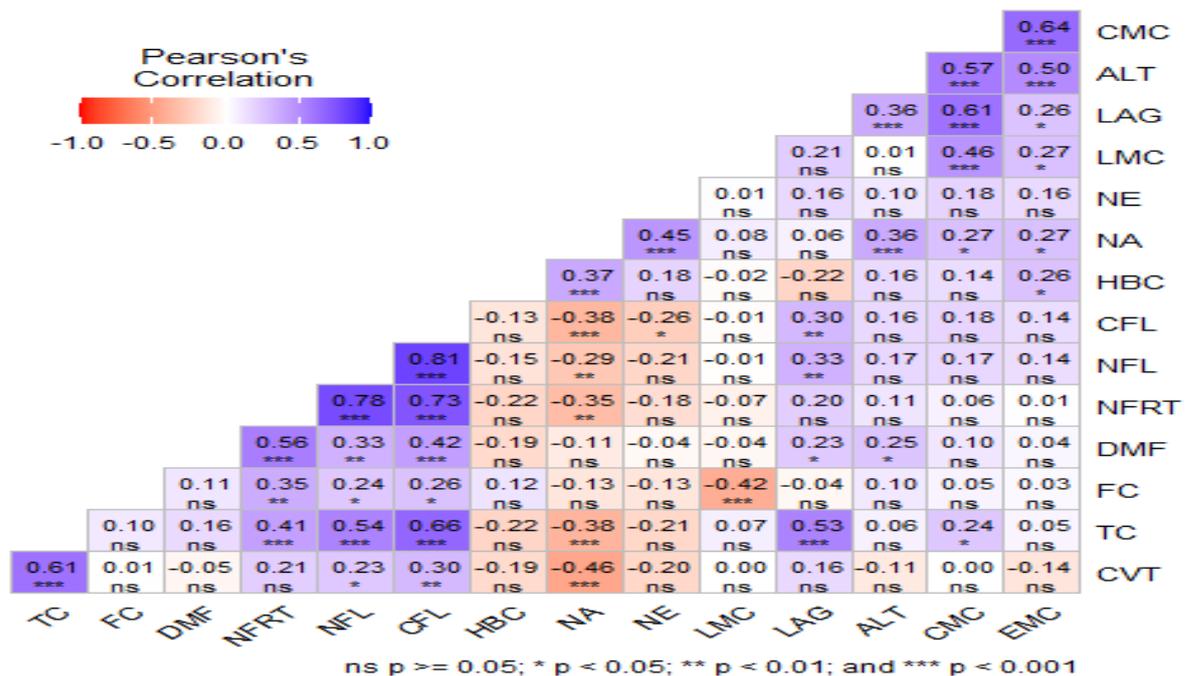
A matriz de correlação resultante das características avaliadas, mostra que o número total de cladódios apresentou uma forte correlação positiva (valores próximos de 1.0) em relação as características de curvatura do cladódio, número de frutos e de flores e coloração das mesmas. Isso sugere que plantas com mais cladódios tendem a ter cladódios mais curvos, com presença de mais frutos, flores e coloração mais intensa em suas flores, além uma maior largura

da planta. Além disso, a forma do cladódio também se correlaciona positivamente com as mesmas variáveis, exceto a curvatura (Figura 11).

O número de flores mostrou uma forte correlação positiva com a coloração das flores, número de frutos e, conseqüentemente, com o total e forma dos cladódios. O comprimento do cladódio correlacionou-se positivamente com a largura média do cladódio, largura da planta e altura da planta. Sugerindo que cladódios mais compridos tendem a ser mais largos, estando presentes em plantas mais altas e largas (Figura 11).

Ademais, a altura da planta além de se correlacionar com a altura e largura do cladódio, também se correlaciona com a largura da planta e a espessura média do cladódio. Entretanto, é importante destacar que a curvatura se mostrou negativamente correlacionada com o número de aréolas, logo é notado que cladódios mais curvos tendem a ter uma menor quantidade de aréolas. Além disso, o total de cladódios também foi correlacionado negativa (valores próximos de -1.0) para a quantidade de aréolas, logo, quando menor for a quantidade e cladódios totais, maior será a quantidade de aréolas. A forma do cladódio também correlacionou-se negativamente com a largura do cladódio, ou seja, a depender da forma (orbicular, obovada ou espatulada) a largura do mesmo pode ser menor (Figura 11).

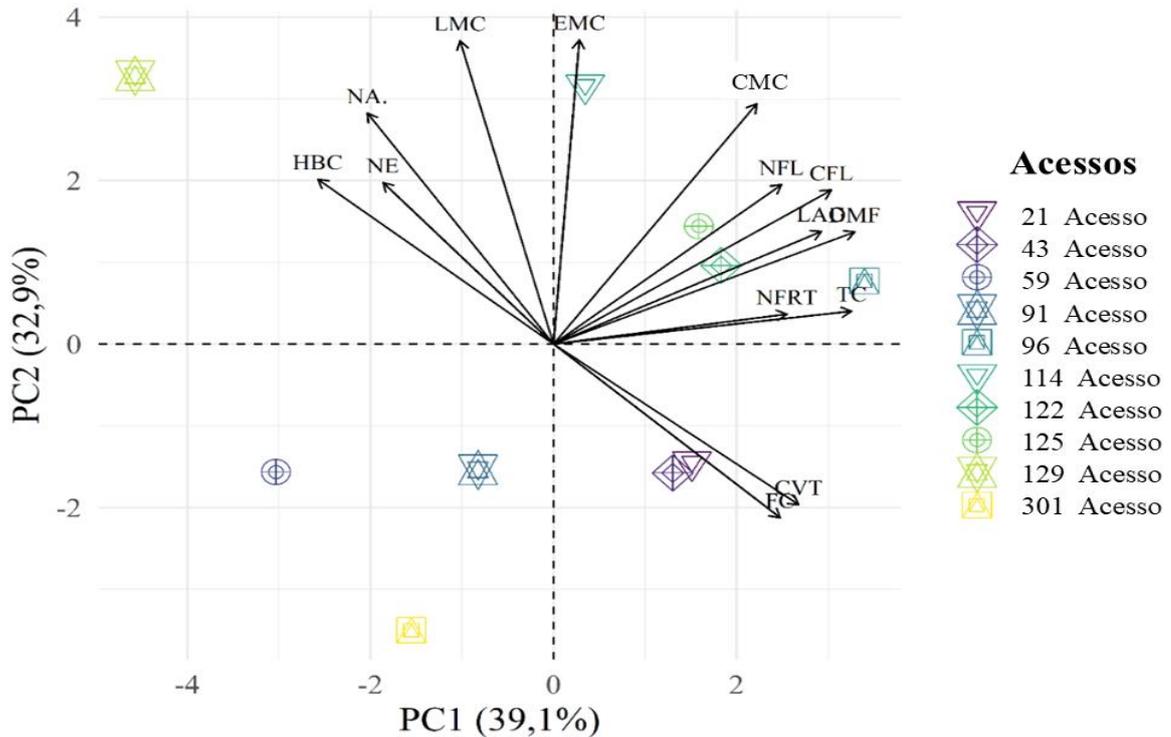
Figura 11. Matriz de Correlação de Pearson em relação as características morfológicas de acessos de palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*): Altura da Planta (ALT); Largura da Planta (LAG); Hábito de Crescimento (HBC); Forma do Cladódio (FC); Curvatura (CVT); Número de Aréolas no Cladódio (NA); Total de Cladódios (TC); Comprimento Médio do Cladódio (CMC); Largura Média do Cladódio (LMC); Espessura Média do Cladódio (EMC); Número de Espinhos (NE); Número de Flores (NFL); Coloração das Flores (CFL); Número de Frutos (NFRT) e Diâmetro do Fruto (DMF). Arcoverde - PE, Brasil, 2023-2024.



5.1.2 Análise dos Componentes Principais

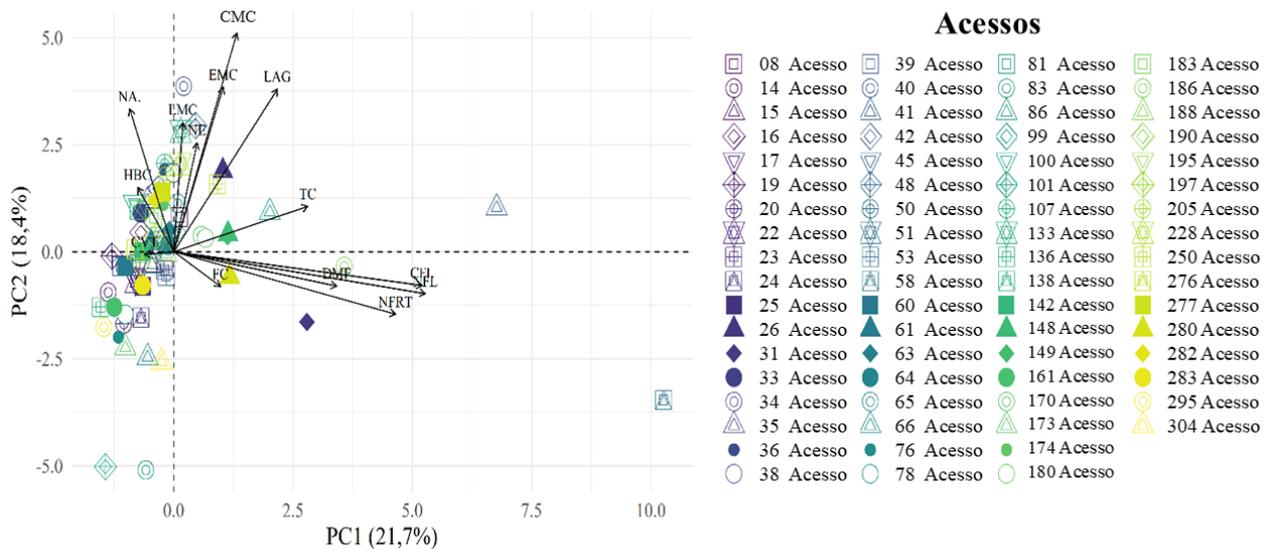
O biplot entre PC1 e PC2 ao ilustrar graficamente a diversidade dos acessos, revelou substancial variabilidade dentre e entre os gêneros. Com base nas características morfológicas, PC1 e PC2 dispersaram os 10 acessos de *Nopalea*, explicando 72% da variância dos dados (Figura 12). Com base nas características morfológicas, PC1 e PC2 dispersaram os 10 acessos de *Nopalea*. No qual, foram agrupados (mais próximos) com base em certas características relacionadas, assim o primeiro componente principal (39,1%) agrupou os acessos com base nas variáveis de hábito de crescimento, número de espinhos, número de aréolas, largura média do cladódio, espessura média do cladódio, curvatura e forma do cladódio. Além disso, observou-se que o acesso 129 (V-19 Clone 8) foi formado com base na proximidade de grande parte das variáveis da primeira dimensão, exceto para as variáveis curvatura e forma dos cladódios, na qual agrupou os acessos 21 (F1 Melhorada IPA 15-21) e 43 (IPA 94 – Doce Miúda). Além disso, os acessos 59 (Orelha de Onça), 91 (IPA – Jeska C14) e 301 (Nopalea Uruapan) se difere dos demais, sendo parcialmente diferentes do grupo inteiro. As variáveis altura média do cladódio, número de flores, coloração das flores, largura da planta, diâmetro do fruto, número de frutos e total de cladódios se agruparam no segundo componente principal (32,9%), tendo os acessos 96 (IPA – Jeska 18), 114 (IPA – Jeska C19), 122 (IPA – Jeska C21) e 125 (IPA – Jeska C23), (Figura 12).

Figura 12. Biplot dos Componentes Principais (PC1 e PC2) apresentando a dispersão dos 10 acessos de *Nopalea* para as variáveis estudadas: Altura da Planta (ALT); Largura da Planta (LAG); Hábito de Crescimento (HBC); Forma do Cladódio (FC); Curvatura (CVT); Número de Aréolas no Cladódio (NA); Total de Cladódios (TC); Comprimento Médio do Cladódio (CMC); Largura Média do Cladódio (LMC); Espessura Média do Cladódio (EMC); Número de Espinhos (NE); Número de Flores (NFL); Coloração das Flores (CFL); Número de Frutos (NFRT) e Diâmetro do Fruto (DMF). Arcoverde - PE, Brasil, 2023-2024.



A PCA para o gênero *Opuntia*, explicou 40,1% da variância dos dados (Figura 13), onde a primeira dimensão e a segunda apresentaram, respectivamente 21,7% e 18,4% da variabilidade dos acessos, indicando que a PC1 foi composta por acessos que apresentaram proximidade para as variáveis largura média do cladódio, número de espinhos, espessura média do cladódio, altura média do cladódio, largura da planta e número de aréolas. Já a PC2 apresentou similaridade para as variáveis hábito de crescimento, curvatura, total de cladódios, forma do cladódio, diâmetro do fruto, número de frutos, número de flores e coloração das flores. Os acessos 41 (IPA 90-106), 58 (IPA-98/T20F4), 83 (IPA-98/T30F1) e 101 (Amarillo Milpa Alta) apresentaram maior dissimilaridade, sendo distantes dos demais em relação as variáveis estudadas (Figura 13).

Figura 13. Biplot dos Componentes Principais (PC1) e (PC2) apresentando a dispersão dos 70 acessos de *Opuntia* para as variáveis estudadas: Altura da Planta (ALT); Largura da Planta (LAG); Hábito de Crescimento (HBC); Forma do Cladódio (FC); Curvatura (CVT); Número de Aréolas no Cladódio (NA); Total de Cladódios (TC); Comprimento Médio do Cladódio (CMC); Largura Média do Cladódio (LMC); Espessura Média do Cladódio (EMC); Número de Espinhos (NE); Número de Flores (NFL); Coloração das Flores (CFL); Número de Frutos (NFRT) e Diâmetro do Fruto (DMF). Arcoverde - PE, Brasil, 2023-2024.



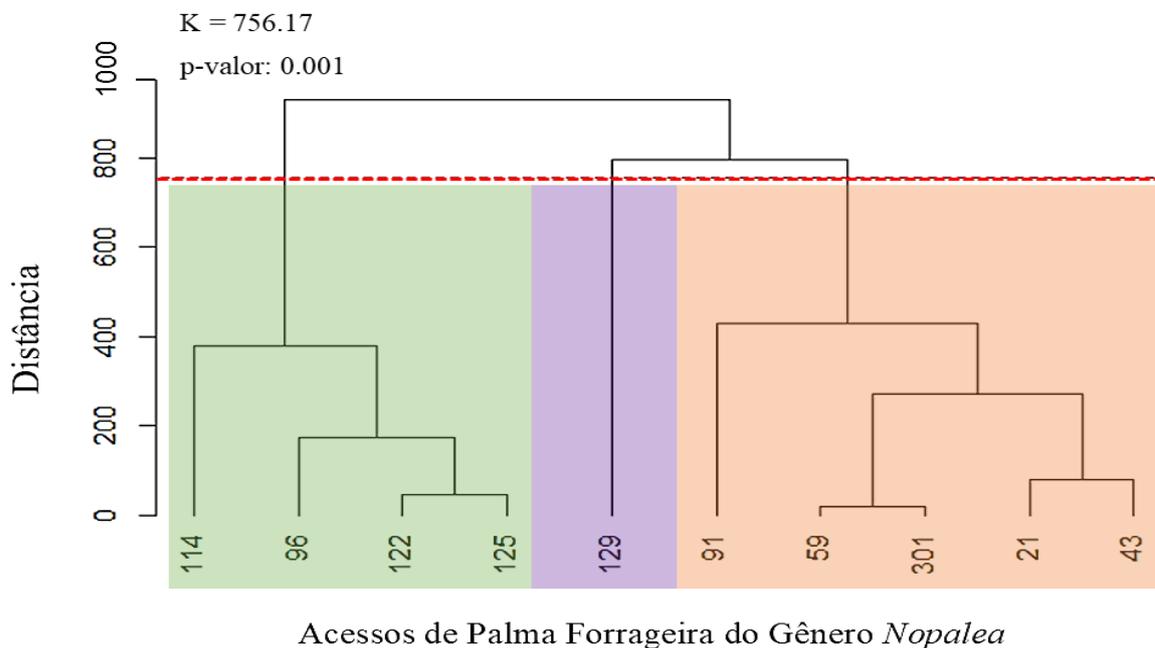
5.1.3 Análise de Cluster

O dendrograma apresentado na Figura 14, agrupou os acessos de *Nopalea* em três grupos principais. O primeiro grupo foi subdividido em dois subgrupos, totalizando quatro acessos (114, 96, 112 e 125). O segundo grupo principal reuniu apenas um único acesso (129). Já o terceiro grupo principal foi dividido em dois subgrupos, sendo o primeiro composto por um acesso (91) e o segundo por quatro acessos (59, 301, 21 e 43), (Figura 14).

A análise foi realizada com base no método UPGMA, que apresentou uma alta correlação cofenética (0,76), indicando concordância entre a árvore filogenética e a matriz de distâncias originais. Esse resultado sugere que o dendrograma representa de maneira precisa as relações de similaridade entre os indivíduos, conforme os dados analisados. O ponto de corte foi definido pelo método de Mojena, que apresentou um k de 756,17. Além disso, essa análise apresentou significância estatística pelo teste de Mantel, com um p -valor de 0,001 (Figura 14).

As características analisadas incluíram variáveis quantitativas, relacionadas à mensuração da planta e do cladódio, como altura, comprimento e espessura, além da quantidade de flores e frutos e seu diâmetro. Também foram consideradas variáveis qualitativas, como hábito de crescimento, forma do cladódio, presença de curvatura e coloração das flores.

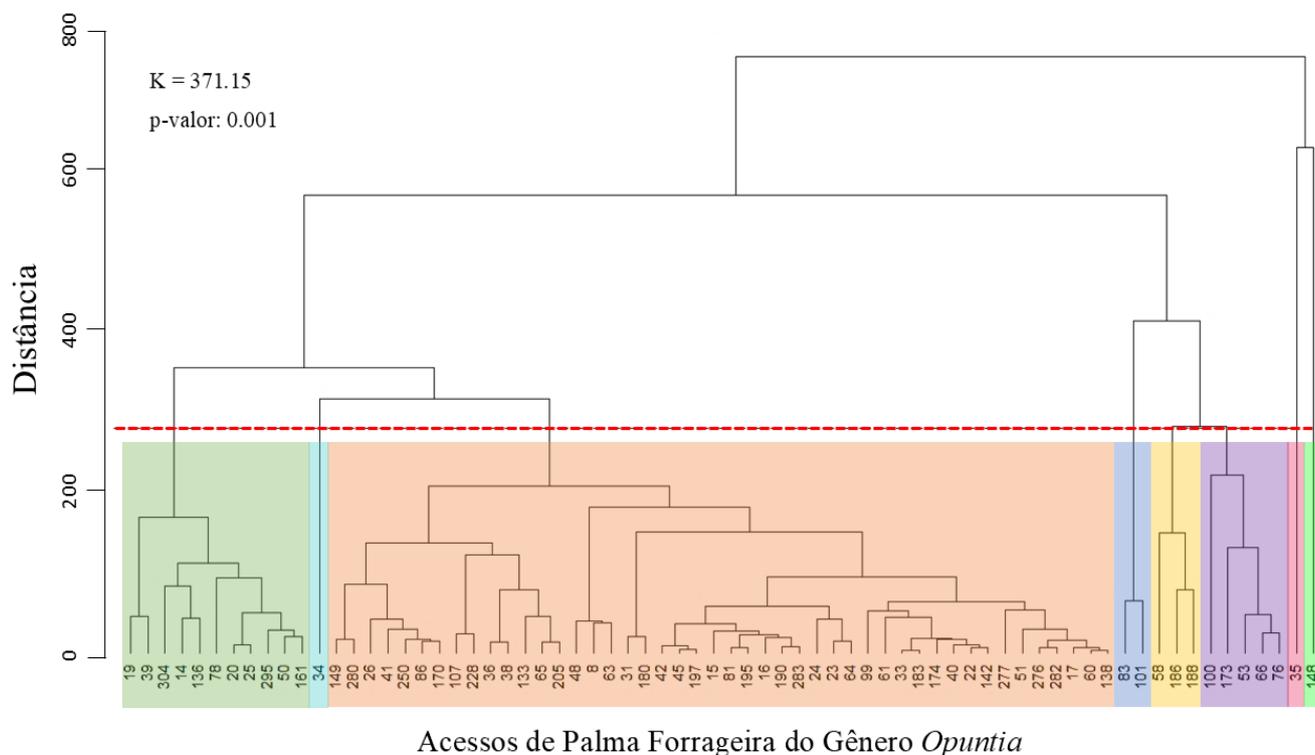
Figura 14. Dendrograma do Gênero *Nopalea* com 10 acessos de palma forrageira obtidos pelo método UPGMA (correlação cofenética = 0,76) com base nas 15 características morfológicas estudadas.



O dendrograma referente ao gênero *Opuntia* agrupou um total de oito grupos principais, com base no ponto de corte definido pelo método de Mojena ($k = 371,15$). A correlação cofenética obtida de 0,69 indicou um nível moderado de similaridade fenotípica entre os elementos agrupados, como também significância estatística pelo teste de Mantel, com um p -valor de 0,001 (Figura 15).

Destaca-se a presença de três grupos principais (segundo, sétimo e oitavo) formados por apenas um único acesso, correspondendo aos acessos 34, 35 e 148, respectivamente. Os demais grupos foram organizados em diversos subgrupos (Figura 21). O primeiro grupo principal foi formado a partir da dissimilaridade de 11 acessos (19, 39, 304, 14, 136, 78, 20, 25, 295, 50 e 161), distribuídos em dois subgrupos. O terceiro e maior grupo principal reuniu um total de 46 acessos, divididos em 7 subgrupos. O quarto grupo principal foi composto por apenas dois acessos (83 e 101), enquanto o quinto e o sexto grupos principais apresentaram três (58, 186, 188) e cinco (100, 173, 53, 66 e 76) acessos, respectivamente, sendo que o sexto grupo foi subdividido em dois subgrupos (Figura 15).

Figura 15. Dendrograma do Gênero *Opuntia* com 70 acessos de palma forrageira obtidos pelo método UPGMA UPGMA (correlação cofenética = 0,69) com base nas 15 características morfológicas estudadas.



5.2 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR

A quantificação e o grau de pureza do DNA obtido por diferentes métodos de extração aplicados aos acessos de palma forrageira. Foram comparados três protocolos: o kit comercial Norgen Biotek, protocolo de extração de Doyle e Doyle (1987) e a extração com o Trizol Invitrogen™, conforme é apresentado na Tabela 4.

A quantidade média de DNA extraída variou entre os métodos. O protocolo com o Trizol apresentou a maior concentração de DNA (6.362,71 ng/μL), indicando um alto rendimento na extração do material genético, seguido pelo método Doyle e Doyle (1987) (173,77 ng/μL) e pelo kit comercial Norgen Biotek (15,47 ng/μL).

A razão A260/A280, utilizada para estimar a contaminação por proteínas, apresentou o protocolo do Trizol com o maior valor (1,81), indicando um alto grau pureza do DNA, sugerindo uma baixa contaminação por proteínas em relação aos demais métodos, conforme apresentado na Tabela 4. O método proposto por Doyle & Doyle (1987), por sua vez, apresentou uma razão de 1,12, sugerindo a presença de proteínas e carboidratos que podem ter co-precipitado juntamente com o DNA durante a extração. Já a razão A260/A230, que avalia a presença de contaminantes orgânicos, foi observado o valor mais alto para o protocolo com Trizol (1,06),

enquanto os métodos de Norgen Biotek e Doyle e Doyle apresentaram valores inferiores (0,60 e 0,20, respectivamente), indicando maior contaminação nesses protocolos.

Os resultados referentes as razões A260/A280 e A260/A230, indicam a presença de contaminação nos fragmentos do DNA extraído, pode ter comprometido a eficiência da PCR, uma vez que proteínas e carboidratos podem inibir a ação da Taq polimerase, a qual é responsável pela abertura da fita do DNA.

Tabela 4. Quantificação e Grau de Pureza do DNA obtido por diferentes métodos de extração: Kit comercial da Norgen Biotek; Protocolo Doyle e Doyle (1987) e Protocolo de Extração com Trizol. Recife-PE, Brasil, 2024.

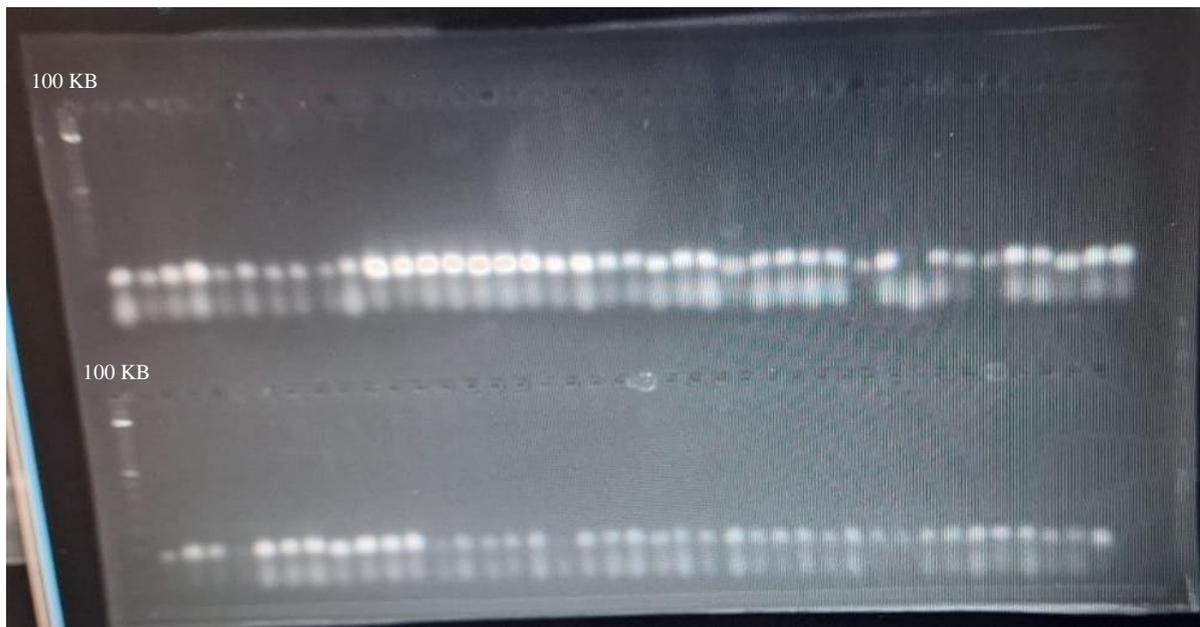
	Métodos de Extração			
	Kit Comercial Norgen Biotek	Doyle e Doyle (1987)	Trizol	Pr>Fc
Quantidade Média de DNA (ng/μL)	15,47 B	173,77 B	6.362,71 A	<,0001
Razão A260/280	1,0 B	1,12 B	1,81 A	<,0001
Razão A260/230	0,60 B	0,20 C	1,06 A	<,0001

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey.

5.2.1 Amplificação por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Com base nos resultados da extração, embora o uso do Trizol tenha demonstrado eficiência na obtenção de DNA, o mesmo não apresentou desempenho satisfatório na PCR. Observou-se que os DNAs extraídos dos 80 acessos de palma não apresentaram bandas nítidas e definidas que indiquem amplificação do DNA pelos primers utilizados, conforme apresentado na Figura 16. Esse resultado sugere a presença de inibidores residuais provenientes do processo de extração, comprometendo a amplificação específica dos acessos.

Figura 16. Gel de agarose dos produtos de PCR obtidos por eletroforese a partir do DNA genômico extraído de 80 amostras de tecido de Palma Forrageira utilizando o protocolo de extração de Trizol.



6. DISCUSSÃO

6.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA

A análise multivariada de parâmetros qualitativos e quantitativos associados a planta inteira em relação aos seus cladódios, flores e frutos demonstraram conclusivamente uma separação clara dos dois gêneros/espécies estudadas. A matriz de correlação indicou alta variabilidade entre as características morfológicas, confirmando a relevância das características do cladódio para identificar espécies valiosas de palma forrageira (PEÑA-VALDIVIA *et al.*, 2008). Neste contexto, a análise de parâmetros de crescimento em plantas é uma ferramenta essencial para compreender os processos fisiológicos, genéticos e agrônômicos, permitindo a identificação de características de interesse entre diferentes materiais botânicos (ADLI *et al.*, 2017, 2019; JARDIM *et al.*, 2020).

A morfologia dos cladódios, incluindo sua curvatura e forma, desempenha um papel essencial no desenvolvimento da planta, influenciando processos como fotossíntese, dispersão de sementes e polinização (ROCHA; VOLTOLINI; GAVA, 2017). Nesse sentido, a exposição à luz se mostra um fator determinante, intensificando o crescimento e desenvolvimento dos cladódios. Neste estudo, esse efeito foi comprovado pelo impacto na forma, no número total de cladódios e na curvatura das plantas de palma forrageira (Tabela 3 e Figura 16).

A curvatura e a orientação dos cladódios são adaptações fundamentais que otimizam a captação da luz solar, maximizando a eficiência fotossintética. Nesse contexto, Leite *et al.*

(2020) destacam que a alta produção de biomassa na palma forrageira está diretamente ligada à sua eficiência fotossintética, sendo os cladódios os principais responsáveis pela absorção e utilização da radiação solar no processo de fotossíntese nos cactos. Além de seu papel na captação de luz, a morfologia dos cladódios também pode favorecer a polinização, funcionando como uma plataforma para que os polinizadores se acomodem e entrem em contato com as estruturas reprodutivas da planta, contribuindo para a reprodução e perpetuação da espécie (BARÔNIO *et al.*, 2016).

Dentre as características mais desejáveis apresentadas na Tabela 3, destacam-se a alta produção de cladódios de tamanho adequado e a baixa porcentagem de espinhos, sendo esta última determinada geneticamente. Essa baixa porcentagem de espinhos otimiza a utilização da palma na alimentação animal, garantindo um fornecimento contínuo de forragem de boa qualidade e facilitando tanto a colheita quanto o manejo (SILVA *et al.*, 2010b).

Além disso, a forma dos cladódios surge como uma adaptação para otimizar a reprodução em diferentes condições, sendo um fator determinante para o sucesso reprodutivo da espécie. Além disso, o efeito bioclimático sobre as características quantitativas pode ser explicado pelo controle genético desses caracteres, que são complexos e com determinismo poligênico, portanto, eles são submetidos ao efeito ambiental (ADLI *et al.*, 2017).

Nascimento *et al.* (2011) observaram que as características morfológicas podem distinguir diferentes acessos de palma forrageira, especialmente no gênero *Opuntia*, sugerindo que a variação genética e as características morfológicas são menos afetadas pela densidade de plantio. Esses achados são corroborados pelas Figuras 18 e 19 (Análise de Componentes Principais), nas quais é possível verificar que as características morfológicas realmente distinguem os acessos, especialmente para o gênero *Opuntia*. Por outro lado, no caso de *Nopalea*, os acessos se encontram mais próximos, sugerindo uma maior similaridade morfológica entre eles.

A quantidade de flores em uma planta exerce um papel crucial em seu sucesso reprodutivo. A correlação positiva entre o número de flores e a produção de frutos é um indicativo claro dessa relação. Afinal, as flores são as estruturas reprodutivas das angiospermas, e quanto maior o número de flores, maior a probabilidade de que ocorra a polinização e a subsequente formação de frutos (MANDUJANO *et al.*, 2013). Na Figura 17 (Matriz de Correlação de Pearson), observa-se uma forte correlação positiva entre o número de flores (NFL) e o número de frutos (NFRT), com um coeficiente de 0,78, que é estatisticamente significativo ($p < 0,001$). Esse resultado sustenta a relação descrita acima, ratificando que um maior número de flores está fortemente associado à produção de frutos.

A intensidade da coloração das flores exerce um papel crucial na atração de polinizadores, especialmente as abelhas. Flores com cores mais vibrantes tendem a ser mais atrativas, estimulando assim um maior número de polinizadores. Ao coletarem o néctar e o pólen, as abelhas transportam inadvertidamente o pólen de uma flor para outra, processo fundamental para a fecundação e conseqüente formação de frutos. Essa relação simbiótica entre a planta e o polinizador resulta em um aumento na produção de frutos e na perpetuação da espécie. Segantini et al. (2010) observaram que as flores de palma quando abertas, apresentavam cor amarelo-intensa, e após a polinização e o fechamento, apresentavam cor laranja, validando os resultados deste estudo, conforme apresentado na Tabela 3.

Adicionalmente, a correlação relativamente moderada apresentada na Figura 17 entre características relacionadas ao desenvolvimento estrutural da planta como: espessura média do cladódio e largura média do cladódio e o número de flores, condiz com o hábito de crescimento indeterminado da palma forrageira, em que mesmo após o início da floração a planta continua o seu desenvolvimento vegetativo, assim como também é mostrado na Tabela 3.

O comprimento dos cladódios, por sua vez, apresenta uma relação significativa com diversas características morfológicas da planta, como a largura dos cladódios, a altura e a largura da planta como um todo. Essa relação sugere que plantas com cladódios mais compridos tendem a ser maiores e mais robustas, o que pode ser uma adaptação para competir por luz e recursos em ambientes com alta densidade de vegetação (JIMENÉZ RAMOS *et al.*, 2022). A espessura dos cladódios também se mostra relacionada à altura da planta, indicando que plantas mais altas necessitam de estruturas de sustentação mais robustas para suportar seu maior porte (Figura 17).

Foi evidenciado por Queiroz et al. (2015), que a palma demonstra uma resposta mais rápida à emissão de cladódios de primeira e segunda ordens em comparação aos demais, indicando um uso mais eficiente da água para essa finalidade, o que reflete em um maior crescimento e desenvolvimento da planta. Tal resultado está alinhado com o hábito de crescimento característico de espécies de palma forrageira, onde os cladódios de ordens inferiores atuam como suporte para a emergência de novos cladódios, conforme relatado por Pinheiro et al. (2014), corroborando com os resultados deste trabalho, como está descrito na Tabela 3 e na Figura 17.

O material genético da planta, determina suas características intrínsecas, como o tamanho, a forma e dos frutos. No entanto, o ambiente onde a palma se desenvolve, incluindo o clima, o solo e a disponibilidade de água, exerce uma influência significativa sobre essas características. Fatores como a intensidade luminosa, a temperatura e a precipitação podem

moldar a morfologia da planta, afetando o tamanho e a forma de seus cladódios, o número de frutos produzidos e a composição nutricional desses frutos. Além disso, as práticas de manejo, como a adubação, a irrigação e o controle de pragas e doenças, também desempenham um papel crucial na determinação da qualidade e da produtividade das palmeiras. A combinação única desses fatores em diferentes regiões geográficas resulta em uma grande diversidade de palmeiras, cada uma com suas características particulares (DUBEUX *et al.*, 2021).

A avaliação das características morfológicas, nutricionais e do rendimento da palma forrageira é fundamental para entender como a planta responde a diferentes ambientes de cultivo (ALVES & SANTOS, 2024). Além de que, alguns pesquisadores demonstraram que a morfologia de plantas da mesma espécie, é fortemente relacionada com a distribuição geográfica (BARRÓN; VÁZQUEZ; CEPEDA, 2009). Tal observação pode ser confirmada pelos dendrogramas de *Opuntia* e *Nopalea* (Figuras 20 e 21), pois a formação de grupos distintos indica que a morfologia dos acessos está também relacionada à sua origem geográfica. Acessos provenientes de regiões com condições climáticas e edáficas diferentes tendem a se agrupar separadamente, refletindo a influência do ambiente na seleção de características adaptativas.

Ao caracterizar morfológicamente diferentes acessos de *Opuntia spp.* para uso de forragem em áreas áridas e semiáridas da Bolívia, Lazarte & Ramírez (2019) revelaram uma vasta gama de variações fenotípicas. O que atesta a diversidade fenotípica apresentada entre os diferentes acessos de *Opuntia* e *Nopalea*, indicando que os mesmos possuem um grande potencial para serem utilizados no desenvolvimento de cultivares adaptadas às condições locais (região semiárida de Pernambuco – BR), com atributos favoráveis à produção animal; além de contribuírem com a expansão do cultivo da palma forrageira para sistemas de produção em regiões áridas e semiáridas.

A forma do cladódio, por ser uma característica altamente herdável, emerge como um marcador promissor em programas de melhoramento genético. Essa característica permite a seleção e a perpetuação de genótipos com atributos desejáveis, como maior produtividade e qualidade dos frutos. Cladódios maiores e mais desenvolvidos, estão associados a um aumento na produção de biomassa, atendendo assim as demandas dos criadores de animais (PÉREZ-SÁNCHEZ *et al.*, 2015). Assim, a forma do cladódio se configura como um indicador valioso para a obtenção de plantas mais eficientes e de maior valor agrônômico.

Segundo Mohamed & Sbaghi (2023) ao analisarem os parâmetros morfológicos das variedades de *Opuntia*, observaram que a forma do cladódio e do fruto apresentaram maior estabilidade e discriminação entre os acessos. Esses resultados corroboram com os encontrados

por Erre & Chessa (2013), que em um estudo com 38 descritores, concluíram que a forma do cladódio e dos espinhos são os caracteres mais informativos para a identificação de variedades de cactos italianos. Tais estudos reforçam os resultados apresentados nas Figuras 18 e 19, visto que, as variáveis relacionadas à forma do cladódio e do fruto proporcionaram uma maior separação dos grupos, no entanto, a importância relativa de cada variável pode variar entre os gêneros.

Alves et al. (2016) ao investigarem a variabilidade genética, a correlação e a relevância das características fenotípicas em *Opuntia* e *Nopalea*, identificaram uma diversidade genética significativa entre as sete variedades de palma forrageira estudadas, o que possibilitou o agrupamento dos genótipos em três grupos distintos, utilizando o mesmo método aplicado neste trabalho. Esse achado enfatiza a importância das características morfológicas para a identificação e classificação dos acessos. Os dendrogramas (Figuras 20 e 21) baseados nas 15 características morfológicas estudadas, demonstraram como essas características influenciaram a formação dos grupos, já que o agrupamento se dá por meio da expressão do genótipo em relação ao ambiente inserido.

Os resultados encontrados por Alves et al. (2016) são semelhantes aos verificados no presente estudo, onde a análise de Cluster revelou uma maior diversidade genética em *Opuntia* comparada a *Nopalea*. Enquanto *Nopalea* se agrupou em três grupos principais, *Opuntia* apresentou uma estrutura mais complexa, com oito grupos principais. A presença de subgrupos em ambos os gêneros indica a existência de variabilidade genética intraespecífica (MOHAMED; SBAGHI, 2023).

Segundo Galicia-Pérez et al. (2023), a morfometria floral de palma forrageira, mostrou ser uma ferramenta essencial para a identificação de espécies de *Opuntia*, contribuindo para a resolução de ambiguidades taxonômicas. Os autores observaram uma forte correlação entre as características morfológicas das flores e dos cladódios, indicando que uma característica pode impactar outras. Além disso, os resultados sugerem que a caracterização morfológica pode ser útil em programas de melhoramento genético, ajudando na seleção de variedades superiores.

Neste estudo a análise de agrupamento, baseada na matriz de dissimilaridade, demonstrou que os acessos apresentaram variações fenotípicas distintas, com maior homogeneidade intragrupos e maior heterogeneidade entre grupos. Do ponto de vista da seleção e identificação de genótipos, essa variação é benéfica, pois demonstra que os genótipos diferem entre si, permitindo a comparação e a escolha daqueles que exibem as características desejáveis, como maior produtividade e/ou atributos morfológicos específicos (FERREIRA *et al.*, 2003; MELO *et al.*, 2024).

A alta diversidade genética observada em *Opuntia* e *Nopalea* pode ser explicada pela combinação de fatores naturais e antrópicos. O cruzamento de espécies e a persistência de vários indivíduos ao longo de gerações em grandes populações antes da separação contribuem para essa variabilidade. Além disso, o elevado nível de plasticidade fenotípica, poliploidia, hibridização, seleção natural e artificial e dispersão geográfica, promovem a diferenciação entre os genótipos (ADLI *et al.*, 2017; NEFZAOU *et al.*, 2019; BEZERRA *et al.*, 2022; ALVES & SANTOS, 2024; DEV *et al.*, 2024 e MODISE *et al.*, 2024).

6.2 EXTRAÇÃO DO DNA GENÔMICO EM PALMA FORRAGEIRA

A extração de DNA de alta qualidade é essencial para estudos moleculares em cactos, especialmente em palma forrageira. No entanto, a literatura ainda apresenta uma lacuna significativa quanto a métodos eficientes e otimizados para essa espécie vegetal (MARTÍNEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2017). Um dos principais desafios na extração de DNA genômico desses organismos é o alto teor de mucilagem, composta por polissacarídeos e metabólitos secundários encontrados em várias partes da planta, especialmente nos cladódios (FEHLBERG *et al.*, 2013; KOROTKOVA *et al.*, 2011).

Essas substâncias formam complexos estáveis com o DNA, tornando-o insolúvel e dificultando sua purificação. Como resultado, tanto a quantidade quanto a qualidade do DNA extraído são comprometidas, o que limita a eficiência de técnicas moleculares como a PCR (DE LA CRUZ *et al.*, 1997; MONDRAGON-JACOBO *et al.*, 2000). O uso de raízes jovens como fonte de DNA pode ser uma alternativa eficaz, uma vez que apresentam menor concentração de polissacarídeos e outras substâncias que dificultam a extração, em comparação com outras partes da planta (MONTIEL *et al.*, 2011).

No estudo de Esparza *et al.* (2006), as raízes de palma forrageira (*Opuntia spp.*) foram usadas para extração de DNA devido ao seu baixo conteúdo de polissacarídeos, o que resultou em extratos com menor viscosidade e mais adequados para PCR. Essa escolha foi vantajosa em comparação com outras partes da planta, como cladódios e flores, que possuem compostos, como fenóis e polissacarídeos, que podem prejudicar a qualidade do DNA, o que corrobora com a escolha da utilização das raízes para o presente estudo.

Os trabalhos de Asri & Hanafi (2023) e Wong *et al.* (2014), que enfatizam a dificuldade de extração de DNA em cactos devido à presença de compostos como polifenóis, metabólitos secundários e polissacarídeos. Para que um DNA seja considerado puro, Sambrook *et al.* (1989) estabeleceram que sua pureza pode ser avaliada pelas razões A260/A280 e A260/A230.

A razão A260/A280 deve apresentar valores ideais entre 1,6 e 1,9, enquanto a razão A260/A230 deve situar-se entre 2,0 e 2,2. A análise dessas razões é fundamental para a determinação da qualidade do DNA, uma vez que permite identificar possíveis contaminantes.

A razão A260/A280 é comumente utilizada para estimar a contaminação por proteínas, sendo que um valor em torno de 1,8 indica alta pureza. Para uma avaliação mais abrangente, a razão A260/A230 é empregada, pois é mais sensível à presença de contaminantes orgânicos, como carboidratos e fenóis. A detecção desses compostos é essencial, uma vez que eles podem interferir em reações enzimáticas subsequentes (ARMBRECHT, 2013; LAWS; ADAMS, 1996).

Além disso, uma razão A260/A280 elevada pode sugerir contaminação por RNA, enquanto valores reduzidos indicam a presença de proteínas. Já razões A260/A230 abaixo do ideal podem sinalizar contaminação por fenóis ou carboidratos, enquanto valores elevados podem estar relacionados a erros de calibração, conforme mencionado por Sophian & Nasir, (2023) e Versmessen et al. (2024) e apresentado na Tabela 4.

O estudo de Raimundo et al. (2018), comparou diferentes métodos de extração de DNA em quatro espécies de *Opuntia*. O método combinado, que integra o kit DNeasy® Plant Mini ao protocolo CTAB, mostrou maior eficácia, com valores de A260/A230 próximos do ideal (1,67 a 2,01). No entanto, os autores destacam a necessidade de otimização dos protocolos para cactáceas, devido à possível contaminação por fenóis e polissacarídeos, como evidenciado pelos valores de A260/A230 deste estudo.

A utilização de Trizol para a extração de DNA, embora eficaz, pode apresentar desafios semelhantes quando se trabalha com tecidos vegetais ricos em compostos fenólicos, como é o caso de algumas espécies de cactos. Trizol é um reagente amplamente utilizado para a extração de RNA, mas também pode ser usado para DNA. No entanto, um dos principais problemas associados ao uso de Trizol é a presença de resíduos de fenol, que são tóxicos para as enzimas de PCR, prejudicando a amplificação do DNA (SHEDBALKAR *et al.*, 2010).

Esse contaminante pode comprometer a qualidade dos resultados da PCR, pois inibe a atividade da Taq polimerase, resultando em amplificação insuficiente ou até mesmo em falsos positivos. Ademais, o fenol interfere na quantificação dos ácidos nucleicos, podendo levar à superestimação ou subestimação das concentrações de RNA, o que impacta diretamente a precisão da PCR (POOVAKKA *et al.*, 2019; UNGER *et al.*, 2019). (Figura 22)

Rache-Cardenal et al. (2022), em sua pesquisa intitulada "Otimização de um método de extração de DNA usando Subepidermis de *Austrocylindropuntia* e *Opuntia-Opuntioideae*", que teve como objetivo aprimorar os métodos de extração de DNA para espécies dessas subfamílias

de cactáceas, ressalta que a obtenção de DNA de alta qualidade nessas plantas é desafiadora e complexa.

Nesse contexto, os desafios identificados reforçam a necessidade de investir em estudos voltados ao aprimoramento dos protocolos de extração de DNA. Uma vez que, tais avanços possibilitarão análises moleculares mais completas e robustas, contribuindo para o desenvolvimento de cultivares mais produtivas e adaptadas às condições locais.

7. CONCLUSÃO

Os acessos de *Nopalea* apresentaram uma estrutura fenotípica mais definida por apresentar uma menor quantidade de acessos, logo obteve-se agrupamentos mais homogêneos, enquanto os de *Opuntia* demonstraram maior diversidade e formação de grupos mais complexos. De um modo geral, as 15 características morfológicas utilizadas foram eficazes em discriminar os acessos, indicando que a variabilidade morfológica está relacionada à estrutura genética das populações.

A análise de caracteres quantitativos relacionados a dimensão da planta e quantidade de frutos e flores, pode revelar padrões de variação fenotípica associados aos diferentes grupos genéticos, além da distribuição geográfica, o que tende a fornecer informações sobre a adaptação local e a influência do ambiente na diversidade genética do BAG.

Os resultados indicam que o protocolo utilizando o Trizol foi o mais eficiente em termos de quantidade de DNA extraído, além de apresentar os melhores índices de pureza. No entanto, a razão A260/A230 inferior a 2,0 em todos os métodos sugere a presença de contaminantes, o que comprometeu reações subsequentes, como a PCR.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-LATIF, A.; OSMAN, G. Comparison of three genomic DNA extraction methods to obtain high DNA quality from maize. **Plant Methods**, v. 13, n. 1, p. 1, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13007-016-0152-4>

ABOUL-MAATY, N. A.-F.; ORABY, H. A.-S. Extraction of high-quality genomic DNA from different plant orders applying a modified CTAB-based method. **Bulletin of the National Research Centre**, v. 43, n. 1, p. 25, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0066-1>

ADLI, B.; BOUTEKRABT, A.; TOUATI, M.; BAKRIA, T.; TOUATI, A.; BEZINI, E. Phenotypic diversity of *Opuntia ficus indica* (L.) MILL. in the Algerian steppe. **South African Journal of Botany**, v. 109, p. 66–74, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.12.024>

ADLI, B.; TOUATI, M.; YABRIR, B.; BAKRIA, T.; BEZINI, E.; BOUTEKRABT, A. Morphological characterization of some naturalized accessions of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. in the Algerian steppe regions. **South African Journal of Botany**, v. 124, p. 211–217, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.04.017>

AGRE, P.; ASIBE, F.; DARKWA, K.; EDEMODU, A.; BAUCHET, G.; ASIEDU, R.; ADEBOLA, P.; ASFAW, A. Phenotypic and molecular assessment of genetic structure and diversity in a panel of winged yam (*Dioscorea alata*) clones and cultivars. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 18221, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54761-3>

ALMEIDA, I. V. B.; REGO, M. M.; BATISTA, F. R. C.; ARAÚJO, J. S.; SOUZA, J. T. A.; MEDEIROS, L. T. V. Genetic improvement of *Opuntia* spp. for forage production in the Brazilian semi-arid region (review). *In*: 2022, **Acta Horticulturae: International Society for Horticultural Science**, 2022. p. 31–38. Disponível em: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2022.1343.5>

ALMEIDA, I. V. B.; SOUZA, J. T. A.; BATISTA, M. C. Melhoramento genético de plantas forrageiras xerófilas: **Revisão. Pubvet**, v. 13, n. 08, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.31533/pubvet.v13n7a382.1-11>

ALVES, F. A. L.; ANDRADE, A. P.; ALCANTARA BRUNO, R. de L.; SANTOS, D. C.; PEREIRA, V. L. A. Study of the genetic variability, correlation and importance of phenotypic characteristics in cactus pear (*Opuntia* and *Nopalea*). **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 31, p. 2849–2859, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.5897/AJAR2016.11011>

ALVES, F. A. L.; DOS SANTOS, D. C. Morphological and nutritional characterization of the cladodes of seven varieties of forage cactus of the genus *Opuntia* cultivated in Brazil. **South African Journal of Botany**, v. 169, p. 46–55, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.04.020>

AMARAL, S. M. B.; ALMEIDA, A. P. F. de; MARINHO, R. M. O.; SILVA, Y. Y. V.; FROTA, M. M.; DAMACENO, M. N. Utilização Da Palma Forrageira Na Elaboração De

Produtos Alimentícios: Uma Revisão. **Holos**, v. 1, p. 1–9, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.15628/holos.2022.13723>

ARMBRECHT, M. **Detection of contamination in DNA and protein samples by photometric measurements**. v. 1, 2013.

ASHFAQ, Md.; RANI, K. J.; PADMAJA, D.; YADAV, P.; BETHA, U. K. Assessment of Genetic Diversity in Sesame Genotypes Based on Morphological Characters. **International Journal of Environment and Climate Change**, v. 13, n. 11, p. 1104–1111, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.9734/ijecc/2023/v13i113260>

ASRI, N. A. S. M.; HANAFI, W. N. W. Dna Extraction Method For Cactus: A Review And Prospects. **Journal Of Sustainability Science And Management**, v. 18, n. 3, p. 218–235, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.46754/jssm.2023.03.015>

BARÔNIO, G. J.; MACIEL, A. A.; OLIVEIRA, A. C.; KOBAL, R. O. A. C.; MEIRELES, D. A. L.; BRITO, V. L. G.; RECH, A. R. Plantas, polinizadores e algumas articulações da biologia da polinização com a teoria ecológica. **Rodriguésia**, v. 67, n. 2, p. 275–293, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2175-7860201667201>

BARRÓN, M. M.; VÁZQUEZ, C. G.; CEPEDA, R. D. V. Caracterización Morfológica De 40 Cultivares De Nopal De Uso Hortícola Del Banco De Germoplasma Del Crucen-Uach. **Revista Chapingo Serie Zonas Áridas**, v. 8, p. 31–41, 2009. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=455545064005>. Acesso em: 9 out. 2024.

BERED, F.; BARBOSA NETO, J. F.; CARVALHO, F. I. F. de. Marcadores moleculares e sua aplicação no melhoramento genético de plantas. **Ciência Rural**, v. 27, n. 3, p. 513–520, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84781997000300026>

BLACKBURN, H. D. Biobanking Genetic Material for Agricultural Animal Species. **Annual Review of Animal Biosciences**, v. 6, n. 1, p. 69–82, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-030117-014603>

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V.; FRITSCHÉ-NETO, R. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: Editora da UFV, 2021.

BORGES, R. O.; ANTONIO, R. P.; DA SILVA NETO, J. L.; LIRA, I. C. de S. A. Intra- and interspecific genetic divergence in *Macroptilium* (Benth.) Urb.: a forage option for Brazilian semiarid. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 66, n. 2, p. 363–382, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10722-018-0713-7>

BUNJKAR, A.; WALIA, P.; SANDAL, S. S. Unlocking Genetic Diversity and Germplasm Characterization with Molecular Markers: Strategies for Crop Improvement. **Journal of Advances in Biology & Biotechnology**, v. 27, n. 6, p. 160–173, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.9734/jabb/2024/v27i6873>

CARVALHO, L. P.; LANZA, M. A.; FALLIRJ, J.; SANTOS, J. W. Análise da diversidade genética entre acessos de banco ativo de germoplasma de algodão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 10, p. 1149–1155, 2003.

CARVALHO, S. I. C.; BIANCHETTI, L. B.; RIBEIRO, C. S. C.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. Manual de gestão do banco ativo de germoplasma de capsicum. Brasília – DF: **Embrapa Hortaliças**, 2020. v. 177.

CASTRO, A. C. R. de; CORREIA, D.; SOUZA, F. V. D.; SOUZA, E. H. de; FRANCO, J.; CAVALCANTI, T. B.; SILVA, D. A. da. Brazilian ornamental phylogenetic resources in Embrapa germplasm banks: obstacles and opportunities. **Ornamental Horticulture**, v. 28, n. 4, p. 396–406, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2447-536x.v28i4.2549>

CHEN, S. Advances in Molecular Breeding of Forage Crops: Technologies, **Applications and Prospects**. **Agriculture**, v. 14, n. 2, p. 279, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agriculture14020279>

COSTA, A. M.; SPEHAR, C. R.; SERENO, J. R. B. Conservação dos Recursos Genéticos no Brasil. Brasília - DF: **Embrapa Cerrados**, 2012.

CRUZ, C. D. Princípios de Genética Quantitativa. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2005.
CUNHA, J. T. da S. F. **Aspectos Florais, Caracterização E Seleção De Genótipos De Palma Forrageira (Opuntia e Nopalea)**. 2021. Tese - UFRPE, Recife, 2021. Disponível em: https://sucupira-legado.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popup=true&id_trabalho=11102742. Acesso em: 11 jan. 2025.

DANTAS NETO, J.; MATOS, R. M. de; SILVA, P. F. da; LIMA, A. S. de; AZEVEDO, C. A. V. de; SABOYA, L. M. F. Growth and yield of cactus pear under irrigation frequencies and nitrogen fertilization. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 24, n. 10, p. 664–671, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v24n10p664-671>

DAR, J. A.; KAREEM, M.; ZARGAR, S. M.; WANI, A. A.; RASOOL, S.; BHAT, K. A. Strategies for Conservation of Genetic Resources. *In*: **Rediscovery of Genetic and Genomic Resources for Future Food Security**. Singapore: Springer Singapore, 2020. p. 315–334. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-981-15-0156-2_12

DE LA CRUZ, M.; RAMIREZ, F.; HERNANDEZ, H. DNA Isolation and Amplification from Cacti. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 15, n. 4, p. 319–325, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1007428818078>

DEV, R.; MANGALASSERY, S.; DAYAL, D.; LOUHAICHI, M.; HASSAN, S. Genetic variability, characters association and principal component study for morphological and fodder quality of Opuntia and Nopalea sp. in India. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 71, n. 5, p. 2297–2310, 2024 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10722-023-01773-8>

DEV, R.; MANGALASSERY, S.; DAYAL, D.; LOUHAICHI, M.; HASSAN, S. Genetic variability, characters association and principal component study for morphological and fodder quality of Opuntia and Nopalea sp. in India. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 71, n. 5, p. 2297–2310, 2024 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10722-023-01773-8>

DUBEUX, J. C. B.; DOS SANTOSA, M. V. F.; DE MELLOA, A. C. L.; VIEIRA DA CUNHA, M.; FERREIRA, M. D. A.; DOS SANTOS, D. C.; LIRA, M. D. A.; SILVA, M. D. C. Forage

potential of cacti on drylands. *In*: 2015, **Acta Horticulturae: International Society for Horticultural Science**, 2015. p. 181–186. Disponível em: <https://doi.org/10.17660/actahortic.2015.1067.24>

DUBEUX, J. C. B.; SANTOS, M. V. F. dos; CUNHA, M. V. da; SANTOS, D. C. dos; SOUZA, R. T. de A.; MELLO, A. C. L. de; SOUZA, T. C. de. Cactus (*Opuntia* and *Nopalea*) nutritive value: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 275, p. 114890, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114890>

DUBEUX JÚNIOR, J. C. B.; BEN SALEM, H.; NEFZAQUI, A. L. I. Forage production and supply for animal nutrition. *In*: INGLESE, P.; MONDRAGON, C.; NEFZAQUI, A.; SÁENZ, C. (org.). **Crop Ecology, Cultivation And Uses Of Cactus Pear**. Rome: the **Food and Agriculture Organization of the United Nations and the International Center for Agricultural Research in the Dry Areas**, 2017. v. V, p. 73–90.

DUDHE, M. Y.; MULPURI, S.; MEENA, H. P.; AJJANAVARA, R. R. G.; KODEBOYINA, V. S.; ADALA, V. R. Genetic Variability, Diversity and Identification of Trait-Specific Accessions from the Conserved Sunflower Germplasm for Exploitation in the Breeding Programme. **Agricultural Research**, v. 9, n. 1, p. 9–22, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40003-019-00406-w>

ENGELS, J. M. M. Plant Genetic Resources Management And Conservation Strategies: Problems And Progress. **Acta Horticulturae**, n. 623, p. 179–192, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.623.19>

EPIFÂNIO, N. M. L. S. **Descritores morfológicos e indicador de metabolismo fotossintético em clones de palma forrageira**. 2019. Tese - UFRPE, Recife, 2019.

ERRE, P.; CHESSA, I. Discriminant Analysis Of Morphological Descriptors To Differentiate The *Opuntia* Genotypes. **Acta Horticulturae**, n. 995, p. 43–50, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.995.4>

ERRE, P.; CHESSA, I.; NIEDDU, G.; JONES, P. G. Diversity and spatial distribution of *Opuntia* spp. in the Mediterranean Basin. **Journal of Arid Environments**, v. 73, n. 12, p. 1058–1066, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2009.05.010>

ESPARZA, E. L. I.; BUSTAMANTE, W. J. G.; CABRAL, A. F. J.; BANUELOS, V. R.; MACIAS, R. F. J.; ESPARZA, F. G.; VALDEZ CEPEDA, R. D.; REVELES, L. R. T. Molecular Analysis Of Cactus Pear Cultivars. **Acta Horticulturae**, n. 728, p. 87–92, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2006.728.10>

FEHLBERG, S. D.; ALLEN, J. M.; CHURCH, K. A novel method of genomic DNA extraction for Cactaceae. **Applications in Plant Sciences**, v. 1, n. 3, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3732/apps.1200013>

FERREIRA, C. A.; FERREIRA, R. L. C.; SANTOS, D. C. dos; SANTOS, M. V. F. dos; SILVA, J. A. A. da; LIRA, M. de A.; MOLICA, S. G. Utilização de técnicas multivariadas na avaliação da divergência genética entre clones de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6 suppl 1, p. 1560–1568, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982003000700004>

FERREIRA, M. E.; MORETZSOHN, M. D. C.; BUSO, G. S. C. Fundamentos de caracterização molecular de germoplasma vegetal. Brasília – DF: **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 2007. v. 1.

FIGÀS, M. R.; PROHENS, J.; CASANOVA, C.; FERNÁNDEZ-DE-CÓRDOVA, P.; SOLER, S. Variation of morphological descriptors for the evaluation of tomato germplasm and their stability across different growing conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 238, p. 107–115, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.04.039>

GALICIA-PÉREZ, A.; GOLUBOV, J.; MANZANAREZ-VILLASANA, G.; MARTÍNEZ-RAMOS, L. M.; ARIAS, S.; MÁRQUEZ-GUZMÁN, J.; MANDUJANO, M. C. Complex taxonomy in Opuntioideae: is floral morphometry essential to identify *Opuntia* species? **Botany**, v. 101, n. 11, p. 485–497, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1139/cjb-2022-0133>

GALLEGOS-VÁZQUEZ, C.; CERVANTES-HERRERA, J.; BARRIENTOS-PRIEGO, A. F. Manual Gráfico para la Descripción del Nopal Tunero y Xoconostle (*Opuntia* spp.). Serviço ed. Chapingo, México: **SAGARPA-SNICS**, 2005. *E-book*. Disponível em: <https://www.gob.mx/snics/acciones-y-programas/manual-grafico-para-la-descripcion-varietal-de-nopal-tunero-y-xoconostle-153034>. Acesso em: 28 set. 2024.

GARCETE-GÓMEZ, J. M.; CONFORTO, C.; DOMÍNGUEZ-MONGE, S.; FLORES-SÁNCHEZ, J. L.; MORA-AGUILERA, G.; MICHEREFF, S. J. Sample size for assessment of cladode brown spot in prickly pear cactus. **European Journal of Plant Pathology**, v. 149, n. 3, p. 759–763, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1213-x>

GOMES FILHO, A.; OLIVEIRA, J. G. de; VIANA, A. P.; SIQUEIRA, A. P. de O.; OLIVEIRA, M. G.; PEREIRA, M. G. Marcadores moleculares RAPD e descritores morfológicos na avaliação da diversidade genética de goiabeiras (*Psidium guajava* L.). **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, n. 4, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v32i4.4720>

HASAN, M.; ABDULLAH, H. M. Plant Genetic Resources and Traditional Knowledge: Emerging Needs for Conservation. *In: Plant Genetic Resources and Traditional Knowledge for Food Security*. Singapore: Springer Singapore, 2015. p. 105–120. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-981-10-0060-7_6

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário**. Número de estabelecimentos agropecuários, quantidade produzida e área colhida, por produtos da lavoura temporária (Palma Forrageira) - Resultados preliminares 2017. *[s. l.]*, 2017.

INMET - Instituto Nacional De Meteorologia. **Normal climatológica do Brasil: 1991-2020**. *[s. l.]*, 2024. Disponível em: <https://portal.inmet.gov.br/normais>. Acesso em: 14 out. 2024.

JARDIM, A. M. da R. F.; SILVA, T. G. F. da; SOUZA, L. S. B. de; ARAÚJO JÚNIOR, G. do N.; ALVES, H. K. M. N.; SOUZA, M. de S.; ARAÚJO, G. G. L. de; MOURA, M. S. B. de. Intercropping forage cactus and sorghum in a semi-arid environment improves biological efficiency and competitive ability through interspecific complementarity. **Journal of Arid Environments**, v. 188, p. 104464, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2021.104464>

JARDIM, A. M. da R. F.; SILVA, T. G. F. da; SOUZA, L. S. B. de; SOUZA, M. de S. Interação de agroecossistema consorciado com palma-sorgo em ambiente semiárido: uma revisão. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, v. 5, n. 1, p. 069–087, 2020 a. Disponível em: <https://doi.org/10.24221/jeap.5.1.2020.2743.069-087>

JARDIM, A. M. da R. F.; SILVA, T. G. F. da; SOUZA, L. S. B. de; SOUZA, M. de S.; MORAIS, J. E. F. de; ARAÚJO JÚNIOR, G. do N. Multivariate analysis in the morpho-yield evaluation of forage cactus intercropped with sorghum. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 24, n. 11, p. 756–761, 2020 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v24n11p756-761>

JIMENÉZ RAMOS, I.; BERMÚDEZ DE RAMÍREZ, M.; ROJAS DE GÁSCUE, B.; PRIN, J. L.; ROJAS DE ASTUDILLO, L. Caracterización Espectroscópica, Morfológica Y Por Microanálisis De La Biomasa De Los Cladodios De Opuntia Caracasana Salm- Dyck. **infoANALÍTICA**, v. 10, n. 1, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.26807/ia.v10i1.227>

JORDON-THADEN, I. E.; CHANDERBALI, A. S.; GITZENDANNER, M. A.; SOLTIS, D. E. Modified CTAB and TRIzol protocols improve RNA extraction from chemically complex **Embryophyta**. **Applications in Plant Sciences**, v. 3, n. 5, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3732/apps.1400105>

KANG, M.; CHANDERBALI, A.; LEE, S.; SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S.; KIM, S. High-molecular-weight DNA extraction for long-read sequencing of plant genomes: An optimization of standard methods. **Applications in Plant Sciences**, v. 11, n. 3, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/aps3.11528>

KATNA, G.; SOOD, V. K. Plant Genetic Resources, Traditional Knowledge and Their Use in Crop Improvement. *In: Plant Genetic Resources and Traditional Knowledge for Food Security*. Singapore: Springer Singapore, 2015. p. 23–38. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-981-10-0060-7_2

KHLESTKINA, E. K.; CHUKHINA, I. G. **Genetic Resources of Plants: The Conservation and Use Strategy in the 21st Century**. **Herald of the Russian Academy of Sciences**, v. 90, n. 3, p. 298–302, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1134/S1019331620030089>

KHODAEIAMINJAN, M.; NASSRALLAH, A. A.; KAMAL, Khaeld. Y. Potential Attribute of Crassulacean Acid Metabolism of Opuntia spp. Production in Water-Limited Conditions. . *In: RAMADAN, M. F.; AYOUB, T. E. M.; ROHN, S. (org.). Opuntia spp.: Chemistry, Bioactivity and Industrial Applications*. Springer-Nature ed. Cham: Springer International Publishing, 2021. p. 201–218. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-78444-7>

KOROTKOVA, N.; BORSCH, T.; QUANDT, D.; TAYLOR, N. P.; MÜLLER, K. F.; BARTHLOTT, W. What does it take to resolve relationships and to identify species with molecular markers? An example from the epiphytic Rhipsalideae (Cactaceae). **American Journal of Botany**, v. 98, n. 9, p. 1549–1572, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.3732/ajb.1000502>

LAVIOLA, B. G.; LOPES BHERING, L.; MENDONÇA, S. .; BARBOSA ROSADO, T. .; CESAR ALBRECHT, J. . Caracterização morfo-agronômica do banco de germoplasma de pinhao manso na fase jovem. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 3, p. 371–379, 2011.

LAVIOLA, B. G.; ROSADO, T. B.; BHERING, L. L.; KOBAYASHI, A. K.; RESENDE, M. D. V. de. Genetic parameters and variability in physic nut accessions during early developmental stages. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 10, p. 1117–1123, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2010001000010>

LAWS, G. M.; ADAMS, S. P. **Measurement of 8-OHdG in DNA by HPLC/ECD: The Importance of DNA Purity.** **BioTechniques**, v. 20, n. 1, p. 36–38, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.2144/96201bm06>

LAZARTE, L.; RAMÍREZ, K. Morphological characterization of *Opuntia* spp. accessions for potential use as a forage crop in dry areas of Bolivia. **Acta Horticulturae**, n. 1247, p. 123–130, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2019.1247.17>

LEDIG, T. **Conservation strategies for forest gene resources.** **Forest Ecology and Management**, v. 14, n. 2, p. 77–90, 1986. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0378-1127\(86\)90093-9](https://doi.org/10.1016/0378-1127(86)90093-9)

LEITE, M. L. de M. V.; OLIVEIRA, G. A. de; LUCENA, L. R. R. de; OLIVEIRA, A. D. M. de; COSTA, Á. C. de L.; ANJOS, F. L. Q. dos; SILVA, C. B. da; FARIAS, I. M. de. Modelos matemáticos para estimativa de área e peso de cladódio de palma Doce Miúda. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 12, p. e47491211503, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i12.11503>

LEITE, R. M. C.; JARDIM, A. M. da R. F.; ARAÚJO JÚNIOR, G. do N.; ALVES, C. P.; SILVA, G. I. N. da; ROCHA, A. K. P.; SOUZA, L. S. B. de; SILVA, T. G. F. da. Uso de biofertilizantes para intensificação sustentável da produção de palma forrageira irrigada e uso de indicadores agrometeorológicos para avaliação. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 15, n. 1, p. 393–413, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.26848/rbgf.v15.1.p393-413>

LI, Z.; PARRIS, S.; SASKI, C. A. A simple plant high-molecular-weight DNA extraction method suitable for single-molecule technologies. **Plant Methods**, v. 16, n. 1, p. 38, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00579-4>

LIMA, L. R.; SILVA, T. G. F. da; JARDIM, A. M. da R. F.; SOUZA, C. A. A. de; QUEIROZ, M. G. de; TABOSA, J. N. Growth, water use and efficiency of forage cactus sorghum intercropping under different water depths. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 22, n. 2, p. 113–118, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v22n2p113-118>

LIRA, M. A.; FARIAS, I.; SANTOS, D. C.; DUBEUX JR., J. C. B.; MELLO, A. C. L.; SANTOS, M. V. F. Cactus Forage And Semi-Arid Sustainability. **Acta Horticulturae**, n. 811, p. 327–332, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.811.44>. Acesso em: 11 abr. 2024.

MACÊDO, A. J. da S.; CESAR NETO, J. M.; OLIVEIRA, L. B. de; EDVAN, R. L.; SANTOS, E. M. A Cultura Da Palma, Origem, Introdução, Expansão, Utilidades E Perspectivas Futuras:

Revisão De Literatura. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 62967–62987, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n8-652>

MAGALHÃES, A. L. R.; TEODORO, A. L.; OLIVEIRA, L. P. de; GOIS, G. C.; CAMPOS, F. S.; ANDRADE, A. P. de; MELO, A. A. S. de; NASCIMENTO, D. B. do; SILVA, W. A. da. Chemical composition, fractionation of carbohydrates and nitrogen compounds, ruminal degradation kinetics, and in vitro gas production of cactus pear genotypes. **Ciência Animal Brasileira**, v. 22, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1809-6891v22e-69338>

MANDUJANO, M. C.; GOLUBOV, J.; HUENNEKE, L. Reproductive Ecology of *Opuntia macrocentra* (Cactaceae) in the Northern Chihuahuan Desert. **The American Midland Naturalist**, v. 169, n. 2, p. 274–285, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1674/0003-0031-169.2.274>

MANEN, J.-F.; SINITSYNA, O.; AESCHBACH, L.; MARKOV, A. V.; SINITSYN, A. A fully automatable enzymatic method for DNA extraction from plant tissues. **BMC Plant Biology**, v. 5, n. 1, p. 23, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2229-5-23>

MARHRI, A.; BOUMEDIENE, M.; TIKENT, A.; MELHAOUI, R.; JDAINI, K.; MIHAMOU, A.; SERGHINI-CAID, H.; ELAMRANI, A.; HANO, C.; ABID, M.; ADDI, M. A Comparative Analysis of Morphological Characteristics between Endangered Local Prickly Pear and the Newly Introduced *Dactylopius opuntiae*-Resistant Species in Eastern Morocco. **Scientifica**, v. 2024, p. 1–12, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2024/7939465>

MARINČEK, P.; WAGNER, N. D.; TOMASELLO, S. Ancient DNA extraction methods for herbarium specimens: When is it worth the effort? Applications in **Plant Sciences**, v. 10, n. 3, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/aps3.11477>

MARQUES, O. F. C.; GOMES, L. de P.; MOURTHÉ, M. H. F.; BRAZ, T. G. dos S. B. T.; PIRES NETO, O. de S. Palma forrageira: cultivo e utilização na alimentação de bovinos. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 1, p. 75–93, 2017. Disponível em: <https://goo.gl/Vdsa0j>.

MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, C. R.; RAMÍREZ-MENDOZA, R.; JIMÉNEZ-RAMÍREZ, J.; GALLEGOS-VÁZQUEZ, C.; LUNA-VEGA, I. Improved method for genomic DNA extraction for *Opuntia* Mill. (Cactaceae). **Plant Methods**, v. 13, n. 1, p. 82, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13007-017-0234-y>

MATOS, L. V.; DONATO, S. L. R.; DA SILVA, B. L.; KONDO, M. K.; LANI, J. L. Structural characteristics and yield of “gigante” cactus pear in agroecosystems in the semi-arid region of Bahia, Brazil. **Revista Caatinga**, v. 33, n. 4, p. 1111–1123, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1983-21252020v33n426rc>

MAVRODIEV, E. V.; DERVINIS, C.; WHITTEN, W. M.; GITZENDANNER, M. A.; KIRST, M.; KIM, S.; KINSER, T. J.; SOLTIS, P. S.; SOLTIS, D. E. A new, simple, highly scalable, and efficient protocol for genomic DNA extraction from diverse plant taxa. Applications in **Plant Sciences**, v. 9, n. 3, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/aps3.11413>

MCCOUCH, S. Diversifying Selection in Plant Breeding. **PLoS Biology**, v. 2, n. 10, p. e347, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020347>

MELO, T. de S.; DE SOUSA, W. H.; RAMOS, J. P. de F.; CARTAXO, F. Q.; MORAIS, L. K. da C.; SOUZA, T. T. dos S.; DE SOUSA, F. A.; VIANA, J. A.; DE OLIVEIRA, F. G.; DA CRUZ, A. F.; CORDÃO, M. A. Multivariate techniques for analyzing morphological characteristics of cactus pear genotypes in semiarid Brazil. **Observatório De La Economía Latinoamericana**, v. 22, n. 2, p. e3299, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.55905/oelv22n2-135>

MENG, L.; FELDMAN, L. A rapid TRIzol-based two-step method for DNA-free RNA extraction from *Arabidopsis* siliques and dry seeds. **Biotechnology Journal**, v. 5, n. 2, p. 183–186, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/biot.200900211>

MERGULHÃO, A. C. do E. S.; RITO, K. F.; CORDEIRO, D. dos S.; SILVA, M. L. R. B. da; LYRA, M. do C. C. P. de; SILVA, M. V. da. Marcadores moleculares para detecção de variabilidade genética em variedades de palma forrageira. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 17, n. 1, 2012 a. Disponível em: <https://doi.org/10.4322/pap.2012.014>

MERGULHÃO, A. C. do E. S.; RITO, K. F.; CORDEIRO, D. dos S.; SILVA, M. L. R. B. da; LYRA, M. do C. C. P. de; SILVA, M. V. da. Marcadores moleculares para detecção de variabilidade genética em variedades de palma forrageira. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 17, n. 1, 2012 b. Disponível em: <https://doi.org/10.4322/pap.2012.014>

MOHAMED, E. A.; SBAGHI, M. Morphological and phenological characterization of Moroccan *Opuntia* cactus varieties (Karama, Ghalia, Belara, Marjana, Cherratia, Angad, and Melk Zhar) resistant to the cactus cochineal *Dactylopius opuntiae* (Cockerell). **Journal of the Professional Association for Cactus Development**, v. 25, p. 115–135, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.56890/jpacd.v25i.519>

MONDINI, L.; PAGNOTTA, M. A. Using Molecular Techniques to Dissect Plant Genetic Diversity. *In: [S. l.: s. n.]*. p. 125–157. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-25637-5_6

MONDRAGON-JACOBO, C.; DOUDAREVA, N.; BORDELON, B. P. DNA Extraction from Several **Cacti**. **HortScience**, v. 35, n. 6, p. 1124–1126, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.35.6.1124>

MONDRAGÓNS, J. C.; CHESSA, I. Nopal (*Opuntia* spp.) recursos genéticos. *In: Crop Ecology, Cultivation and uses of cactus Pear*. Final ed. Rome: **Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO**, 2018. v. V, p. 51–59.

MONTIEL, D.; MOCTEZUMA, E.; PALOMINO, G.; BERMÚDEZ, M.; FRANCISCO, J.; FERNÁNDEZ, F. DNA extraction from roots of xoconostle. **Journal of The Professional Association for Cactus Development**, v. 14, p. 35–40, 2011.

NAM, V. T.; HANG, P. L. B.; LINH, N. N.; LY, L. H.; HUE, H. T. T.; HA, N. H.; HANH, H. H.; HIEN, L. T. T. Molecular markers for analysis of plant genetic diversity. **Vietnam Journal of Biotechnology**, v. 18, n. 4, p. 589–608, 2021 a. Disponível em: <https://doi.org/10.15625/1811-4989/18/4/15326>

NASCIMENTO, J. D.; SOUTO, J. S.; SANTOS, E. D.; DAMASCENO, M. M.; RAMOS, J. D. F.; SALES, A. T.; LEITE, M. L. M. V. Caracterização morfométrica de *Opuntia ficus-indica* sob diferentes arranjos populacionais e fertilização fosfatada. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 5, n. 3, p. 21–26, 2011.

NEFZAOU, M.; LIRA, M. A.; BOUJGHAGH, M.; UDUPA, S. M.; LOUHAICHI, M. Morphological characterization of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) accessions from Agadir, Morocco. **Acta Horticulturae**, n. 1247, p. 163–170, 2019a. Disponível em: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2019.1247.23>

NEFZAOU, M.; LIRA, M. A.; UDUPA, S. M.; LOUHAICHI, M.; BOUJGHAGH, M.; SANTOS, D. C. Assessment of genetic diversity of Brazilian and Mediterranean cactus cultivars by SSR markers and morphological traits. **Acta Horticulturae**, n. 1247, p. 171–182, 2019b. Disponível em: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2019.1247.24>

NGUYEN, G. N.; NORTON, S. L. **Genebank Phenomics: A Strategic Approach to Enhance Value and Utilization of Crop Germplasm**. **Plants**, v. 9, n. 7, p. 817, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants9070817>

NOSHITA, K.; MURATA, H.; KIRIE, S. Model-based plant phenomics on morphological traits using morphometric descriptors. **Breeding Science**, v. 72, n. 1, p. 21078, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1270/jsbbs.21078>

NUNES, C. dos S. Usos E Aplicações Da Palma Forrageira Como Uma Grande Fonte De Economia Para O Semiárido Nordestino. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Campina Grande-PB, v. 6, n. 1, p. 58–66, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.18378/rvads.v6i1.551>

OLIVEIRA, F. T. de; SOUTO, J. S.; SILVA, R. P. da; ANDRADE FILHO, F. C. de; PEREIRA JÚNIOR, E. B. Palma Forrageira: Adaptação E Importância Para Os Ecossistemas Áridos E Semiáridos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 5, n. 4, p. 27–37, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.18378/rvads.v5i4.336>

OLIVEIRA, J. **Avaliação genética de clones de duas espécies de palma (*Opuntia ficus-indica* Mill e *Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck) para fins forrageiros**. 2011. Dissertação - IEFS, Feira de Santana, Bahia, 2011.

OMAR, A. A.; ELSAYED, A. I.; MOHAMED, A. H. Genetic diversity and ecotypes of *Opuntia* spp. In: *Opuntia* spp.: Chemistry, Bioactivity and Industrial Applications. [S. l.]: **Springer International Publishing**, 2021. p. 181–199. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-030-78444-7_8

PADILHA JUNIOR, M. C.; DONATO, S. L. R.; SILVA, J. A.; DONATO, P. E. R.; SOUZA, E. S. Características morfométricas e rendimento da palma forrageira ‘Gigante’ sob diferentes adubações e configurações de plantio. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 11, n. 1, p. 67, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.18378/rvads.v11i1.3710>

PÁDUA, J. G.; ALBUQUERQUE, M.; MELLO, S. C. M. Bancos e coleções de germoplasma da Embrapa: conservação e uso. Brasília: **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 2020. v. 371.

PAIXÃO, S. L.; LIRA, M.; MELO, A.; SANTOS, D.; FERRAZ, I.; CAVALCANTE, M. Estimativas de parâmetros genéticos em clones de palma forrageira no município de São Bento do Una. **Revista Científica Produção Animal**, v. 13, n. 1, p. 28–32, 2011.

PEÑA-VALDIVIA C.B.; LUNA-CAVAZOS, Mario. ; CARRANZA-SABAS, J. A. ; REYES-AGÜERO, J. A. ; FLORES, Arnoldo. Morphological characterization of *Opuntia* spp.: A multivariate analysis. **Journal of the Professional Association for Cactus Development**, v. 10, p. 1–21, 2008.

PÉREZ-SÁNCHEZ, R. E.; DELGADO-SÁNCHEZ, L. A.; GARCÍA-SAUCEDO, P. A.; PULIDO, J.; ORTIZ-RODRÍGUEZ, R. Caracterización, modelación morfológica y análisis proximales de *Opuntia ficus-indica* y *O. atropes* durante las épocas de estiaje y lluvias. Characterization, morphological modeling and proximate analysis of *Opuntia ficus-indica* and *O. atropes* during the dry and rainy seasons. **Revista Electrónica Nova Scientia**, v. 7, n. 15, p. 133–152, 2015. Disponível em: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-07052015000300133&lng=es&tlng=es.

PESSOA, R. M. dos S.; PESSOA, A. M. dos S.; COSTA, D. C. da C. C.; AZEVÊDO, P. C. da S.; GOIS, G. C.; CAMPOS, F. S.; VICENTE, S. L. A.; FERREIRA, J. M. de S.; ARAÚJO, C. de A.; LIMA, D. O. Palma forrageira: Adubação orgânica e mineral. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 13, p. e12111334257, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i13.34257>

PINHEIRO, K. M.; SILVA, T. G. F. da; CARVALHO, H. F. de S.; SANTOS, J. E. O.; MORAIS, J. E. F. de; ZOLNIER, S.; SANTOS, D. C. dos. Correlações do índice de área do cladódio com características morfogênicas e produtivas da palma forrageira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 12, p. 939–947, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2014001200004>

POOVAKKA, S. K.; RAMADAS, D.; RAMADAS, G.; VG, D. R. Quality affecting factors of RNA its assessment and influence on PCR reactions. **International Journal of Scientific Research in Biological Sciences**, v. 5, n. 6, p. 127–134, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.26438/ijrbs/v5i6.127134~>

PRIYANKA, V.; KUMAR, R.; DHALIWAL, I.; KAUSHIK, P. Germplasm Conservation: Instrumental in Agricultural Biodiversity—A Review. **Sustainability**, v. 13, n. 12, p. 6743, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/su13126743>

QUEIROZ, M. G.; SILVA, T. G. F.; ZOLNIER, S.; SILVA, S. M. S.; LIMA, L. R.; ALVES, J. de O. Morphophysiological characteristic and yield of forage cactus under different irrigation depths. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 10, p. 931–938, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v19n10p931-938>

R CORE TEAM. **A language and environment for statistical computing**. [S. l.: s. n.]

RACHE-CARDENAL, L. Y.; ALBESIANO-HOYOS, A. S.; TALL, H. Optimization of a DNA extraction method using Subepidermis from *Austrocylindropuntia* and *Opuntia-Opuntioideae*. **Revista de Investigación, Desarrollo e Innovación**, v. 12, n. 2, p. 305–314, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.19053/20278306.v12.n2.2022.15273>

RAIMUNDO, J.; REIS, C. M. G.; RIBEIRO, M. M. Rapid, simple and potentially universal method for DNA extraction from *Opuntia* spp. fresh cladode tissues suitable for PCR amplification. **Molecular Biology Reports**, v. 45, n. 5, p. 1405–1412, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4303-8>

RANJITHKUMAR, G.; JAWAHAR REDDY, A.; KEERTHANA S, M.; BISEN, R. Unearthing Plant Breeding: Tracing Principles, Evolution, Genetics, and Agricultural Origins. **Agriculture Archives**, v. 1, n. 3, p. 3–4, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.51470/AGRI.2022.1.3.03>

ROCHA, R. S.; VOLTOLINI, T. V.; GAVA, C. A. T. Características produtivas e estruturais de genótipos de palma forrageira irrigada em diferentes intervalos de corte. **Archivos de Zootecnia**, v. 66, n. 255, p. 363, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.21071/az.v66i255.2512>

SACHS, M. M. **Cereal Germplasm Resources**. **Plant Physiology**, v. 149, n. 1, p. 148–151, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.108.129205>

SALGOTRA, R. K.; ZARGAR, S. M. Potential of Genetic and Genomic Resources for Genetic Improvement of Food Crops. *In: Rediscovery of Genetic and Genomic Resources for Future Food Security*. Singapore: Springer Singapore, 2020. p. 1–23. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-981-15-0156-2_1

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning a laboratory manual**. 2. ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

SANCHEZ, D.; SADOON, S. Ben; MARY-HUARD, T.; ALLIER, A.; MOREAU, L.; CHARCOSSET, A. Improving the use of plant genetic resources to sustain breeding programs' efficiency. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 120, n. 14, 2023 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.2205780119>

SANCHEZ, D.; SADOON, S. Ben; MARY-HUARD, T.; ALLIER, A.; MOREAU, L.; CHARCOSSET, A. Improving the use of plant genetic resources to sustain breeding programs' efficiency. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 120, n. 14, 2023 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.2205780119>

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; ARAÚJO FILHO, J. C.; OLIVEIRA, J. B.; CUNHA, T. J. F. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 5. ed. Brasília – DF: **Embrapa Solos**, 2018. v. 5. *E-book*. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1094003>. Acesso em: 11 jan. 2025.

SANTOSO, Y.; PROBOJATI, R. T.; HAPSARI, L.; SUPANDJI, S.; KUSTIANI, E. Variation and clustering analysis of several species of soursop family (Annonaceae) based on vegetative morphology characters. **Agrovigor: Jurnal Agroekoteknologi**, v. 17, n. 1, p. 28–36, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.21107/agrovigor.v17i1.24845>

SEGANTINI, D. M.; TORRES, L. M.; BOLIANI, A. C.; LEONEL, S. Fenologia da figueira-da-índia em Selvíria - MS. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 2, p. 630–636, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452010005000049>

SEHGAL, D.; VIKRAM, P.; SANSALONI, C. P.; ORTIZ, C.; PIERRE, C. Saint; PAYNE, T.; ELLIS, M.; AMRI, A.; PETROLI, C. D.; WENZL, P.; SINGH, S. Exploring and Mobilizing the Gene Bank Biodiversity for Wheat Improvement. **PLOS ONE**, v. 10, n. 7, p. e0132112, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132112>

SHEDBALKAR, U. U.; ADKI, V. S.; JADHAV, J. P.; BAPAT, V. A. Opuntia and Other Cacti: Applications and Biotechnological Insights. **Tropical Plant Biology**, v. 3, n. 3, p. 136–150, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12042-010-9055-0>

SILVA, C. C. F.; SANTOS, L. C. Palma Forrageira (Opuntia Fícus- Indica Mill) como alternativa na alimentação de ruminantes. **Revista Electrónica de Veterinaria REDVET**, v. 7, p. 1–14, 2006.

SILVA, É. S. da; GOMES, I. A.; MELO, L. J. de; MEDEIROS, W. P. de; MEDEIROS, M. B. de. Características da palma forrageira Opuntia spp. com potencial à resistência à cochonilha do carmim Dactylopius opuntiae (Cockerell) (Hemiptera: Dactylopiidae). **Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade**, v. 7, n. 17, p. 1533–1541, 2020. Disponível em: [https://doi.org/10.21438/rbgas\(2020\)071731](https://doi.org/10.21438/rbgas(2020)071731)

SILVA, N. V. da; BEZERRA, J. D. C.; NASCIMENTO JÚNIOR, J. R. S. do N. J.; REGO, M. M.; ANDRADE, A. P. Polimorfismo Em Genótipos De Palma Forrageira Com Diferentes Graus De Resistência Ao Dactylopius Opuntiae. *In*: 2018a, Ciência, Tecnologia E Desenvolvimento Rural: Compartilhando Conhecimentos Inovadores E Experiências. **Instituto Internacional Despertando Vocações**, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.31692/2526-7701.IIICOINTERPDVAGRO.2018.00188>

SILVA, L. F. L.; SOUZA, D. C.; RESENDE, L. V.; GONÇALVES, W. M. Manejo De Recursos Genéticos Vegetais. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 15, n. 1, p. 109–126, 2018 b.

SILVA, N. G. de M. e; LIRA, M. de A.; SANTOS, M. V. F. dos; DUBEUX JÚNIOR, J. C. B.; MELLO, A. C. L. de; SILVA, M. da C. Relação entre características morfológicas e produtivas de clones de palma-forrageira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 11, p. 2389–2397, 2010 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001100011>

SILVA, S.; OCAÑA-RIOS, I.; CAGLIERO, C.; GOSTEL, M. R.; JOHNSON, G.; ANDERSON, J. L. Isolation of DNA from plant tissues using a miniaturized matrix solid-phase dispersion approach featuring ionic liquid and magnetic ionic liquid solvents. **Analytica Chimica Acta**, v. 1245, p. 340858, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2023.340858>

SINGH, B. D.; SINGH, A. K. Polymerase Chain Reaction-Based Markers. *In*: **Marker-Assisted Plant Breeding: Principles and Practices**. New Delhi: Springer India, 2015. p. 47–75. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-81-322-2316-0_3

SINGH, S.; PRAKASH, A.; CHAKRABORTY, N. R.; WHEELER, C.; AGARWAL, P. K.; GHOSH, A. Genetic variability, character association and divergence studies in *Jatropha curcas*

for improvement in oil yield. **Trees**, v. 30, n. 4, p. 1163–1180, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00468-016-1354-0>

SOARES, F. M. F.; ALBUQUERQUE, A. L. S. de; SILVA, W. R. T. Avaliação do crescimento vegetativo de palma forrageira no Semiárido Alagoano. **Diversitas Journal**, v. 6, n. 1, p. 1777–1785, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.17648/diversitas-journal-v6i1-1702>

SOPHIAN, A.; NASIR, L. O. Analysis of Purity and Concentration of DNA Isolated in Dragonfly (*Onychogomphus forcipatus*). **Wahana-Bio: Jurnal Biologi dan Pembelajarannya**, v. 14, n. 2, p. 130, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.20527/wb.v14i2.13209>

SOUZA, T. C.; SANTOS, M. V. F.; DUBEUX JÚNIOR, J. C. B.; LIRA, M. A.; SANTOS, D. C.; CUNHA, M. V.; LIMA, L. E.; SILVA, R. R. Productivity and nutrient concentration in spineless cactus under different fertilizations and plant densities. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 12, n. 4, p. 555–560, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.5039/agraria.v12i4a5473>

UNGER, C.; LOKMER, N.; LEHMANN, D.; AXMANN, I. M. Detection of phenol contamination in RNA samples and its impact on qRT-PCR results. **Analytical Biochemistry**, v. 571, p. 49–52, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ab.2019.02.002>

VERSMESSEN, N.; VAN SIMAEY, L.; NEGASH, A. A.; VANDEKERCKHOVE, M.; HULPIAU, P.; VANECHOUTTE, M.; COOLS, P. Comparison of DeNovix, NanoDrop and Qubit for DNA quantification and impurity detection of bacterial DNA extracts. **PLOS ONE**, v. 19, n. 6, p. e0305650, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0305650>

WANG, X.; XIAO, H.; ZHAO, X.; LI, C.; REN, J.; WANG, F.; PANG, L. Isolation of High-Quality DNA from a Desert Plant *Reaumuria soongorica*. In: **Genetic Diversity in Plants**. [S. l.]: InTech, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.5772/38367>

WONG, L.-M.; SILVARAJ, S.; PHOON, L.-Q. An Optimised High-Salt CTAB Protocol for Both DNA and RNA Isolation from Succulent Stems of *Hylocereus* sp. **Journal of Medical and Bioengineering**, p. 236–240, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.12720/jomb.3.4.236-240>

XAVIER JUNIOR, O. S.; JARDIM, A. M. da R. F.; SOUZA, L. S. B. de; SOUZA, C. A. A. de; CRUZ NETO, J. F. da; ARAÚJO JÚNIOR, G. do N.; LEITE, R. M. C.; SILVA, T. G. F. da. Utilização de biofertilizantes alternativos no cultivo de palma forrageira: Uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 6, p. e46110616024, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i6.16024>

YADAV, B.; PANDIT, D. L.; BANJADE, D.; MEHATA, D. K.; BHATTARAI, S.; BHANDARI, S.; GHIMIRE, N. P.; YADAV, P.; PAUDEL, P. Insights into the germplasm conservation and utilization: Implications for sustainable agriculture and future crop improvement. **Archives of Agriculture and Environmental Science**, v. 9, n. 1, p. 180–193, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.26832/24566632.2024.0901026>