

# Previsão dos valores genéticos em programas de melhoramento de trigo

**Um programa de melhoramento genético tem como critério central a maximização do ganho genético a cada nova geração. A capacidade de previsão do valor genético de cada indivíduo, antes do final de cada ciclo de melhoramento, acelera o processo de seleção de novas linhas parentais e a obtenção de variedades melhoradas.**

Sílvia C. Alves e Octávio Serra . INIAV, I.P.



Um programa de melhoramento convencional é caracterizado, genericamente, por uma etapa inicial de polinização cruzada entre duas linhas parentais geneticamente interessantes e da qual resulta uma primeira geração filial ( $F_1$ ); depois de ultrapassada a fase juvenil, as plantas  $F_1$  autopolinizam-se naturalmente, dando origem à segunda geração filial ( $F_2$ ); desta  $F_2$  selecionam-se visualmente os melhores indivíduos que, depois de ciclos sucessivos de autopolinização e seleção, darão origem a uma população de plantas geneticamente superior e fenotipicamente homogénea, que será testada em diferentes cenários ambientais para que seja aferido o seu desempenho agronómico. Da análise de desempenho agronómico resulta, normalmente, a eleição de uma ou mais linhas elite que poderão ser recicladas como linhas parentais em novos cruzamentos e/ou vir a ser inscritas no Catálogo Nacional de Variedades. Infelizmente, todo este processo demora pelo menos uma década a ser concluído, pois só depois de cumpridas todas estas etapas é que é possível obter uma nova linha melhorada.

Qualquer programa de melhoramento de plantas depende, pois, da experiência e do trabalho meticoloso feito pelos Melhoradores em duas etapas cruciais: a **seleção fenotípica**, que consiste na identificação de indivíduos que, numa determinada população, exibem as características/fenótipos mais favoráveis aos objetivos do programa de melhoramento e a **polinização cruzada controlada**, com a qual se procura atingir 3 objetivos: manter os bons atributos na população, acrescentar novos atributos a partir de progenitores selecionados, e eliminar atributos indesejados.

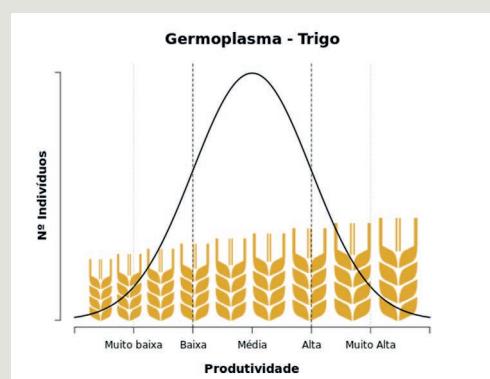
Do ponto de vista fenotípico, as plantas exi-

bem características de dois tipos: qualitativo e quantitativo. São classificados como **qualitativos** todos os atributos hereditários que são agrupáveis em categorias finitas, são tipicamente monogénicos ou geneticamente regulados por poucos genes, estão visivelmente presentes sempre que o indivíduo é portador dos genes (total ou parcialmente funcionais) que os codificam, e não variam com as circunstâncias ambientais. Um exemplo clássico de um atributo qualitativo é a cor das sementes da ervilheira (*Pisum sativum*), que através das categorias "Amarela" e "Verde" permitiu a Gregor Mendel estudar e definir as leis da hereditariedade, em 1865. Os atributos **quantitativos**, por outro lado, são todos os atributos hereditários que apresentam variação contínua quantificável, resultam da herança e expressão acumulada de muitos genes que atuam em sinergia, mas cuja contribuição individual é tão pequena que é impossível de observar isoladamente, e são sensíveis à influência ambiental. Um exemplo típico de um atributo quantitativo é a produtividade de uma cultura, que não só depende de inúmeros fatores endógenos que regulam a fisiologia e morfologia das plantas, como varia com a região de cultivo, chegando a apresentar, inclusivamente, variações locais muito significativas em função das circunstâncias ambientais.

Do ponto de vista do melhoramento, os atributos do tipo quantitativo são aqueles que mais desafiam os melhoradores. Estes, para além de requererem mais tempo, são mais difíceis de melhorar do que os qualitativos porque, devido à sua natureza poligénica, é preciso identificar, e cruzar artificialmente, progenitores portadores de variantes genéticas (**alelos**) benéficas que se encontram dispersas na população e que isoladamente não conferem aos seus portadores uma vantagem/variação significativa, facilmente identificável pelos melhoradores. Na prática, grande parte das características agrono-

micamente importantes são atributos quantitativos e, por essa razão, tornou-se essencial aprofundar o estudo da sua hereditariedade através da **genética quantitativa**.

Ao poderem tomar um qualquer valor dentro de um determinado intervalo, a análise dos atributos quantitativos de uma população não pode ser feita sob a forma de contagens e proporções, mas pode (e deve ser) sistematizada com recurso a métodos estatísticos. Se se pensar numa população de plantas de trigo em fim de campanha e se se quiser analisar a produtividade de cada um dos seus indivíduos (em grãos/espiga), rapidamente se constata que esta varia de indivíduo para indivíduo, mas sempre dentro de um intervalo razoável de valores para este parâmetro, i.e., nenhuma planta de trigo terá associada um valor de produtividade negativo, nem igual a 1000 grãos/espiga. Graficamente, a produtividade desta população – representada matematicamente por uma variável de carácter contínuo que segue uma distribuição normal ou Gaussiana – toma a forma de um sino, cuja base será mais larga ou mais estreita consoante a variação existente na população e com um pico, que corresponde ao valor médio de produtividade da população (Figura 1).



**Figura 1 – Variabilidade observável numa população de trigo para o parâmetro 'Produtividade'.** O maior número de indivíduos da população concentra-se entre as linhas pontilhadas, ou seja, na categoria de produtividade 'Média'. Contudo, alguns indivíduos exibem valores de produtividade extremos: 'Muito baixa'/ 'Baixa' e 'Alta'/'Muito Alta'

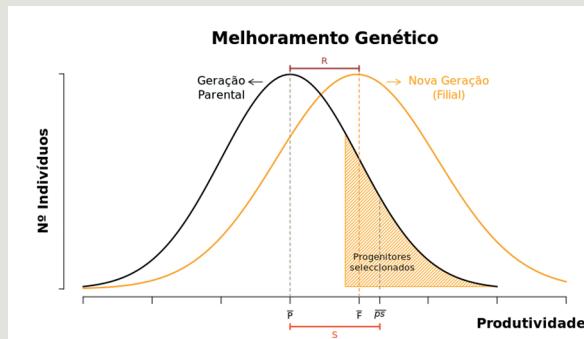
## Valor Genético

Ao longo dos séculos, o que os melhoradores fizeram, de forma mais ou menos empírica, foi selecionar as plantas que exibiam uma produtividade alta e/ou muito alta, relativamente à média populacional, e cruzar artificialmente esses indivíduos geneticamente superiores para garantir a obtenção de um ganho de produtividade na nova geração. Contudo, na prática, a média de produtividade da nova geração ( $\bar{F}$ ) não é exatamente igual à produtividade média dos seus progenitores ( $\bar{ps}$ ), sendo muitas vezes inferior (Figura 2). Tal ocorre porque o fenótipo observado (produtividade) não depende apenas de fatores genéticos, mas sim do binómio genética + ambiente (Figura 3). Quando assim é, a **heritabilidade** – coeficiente que mede a proporção de variabilidade fenotípica associada à variabilidade genética da população e transmitida à geração seguinte ( $h^2=R/S$ ) – não é total. Na realidade, quanto maior for a influência dos fatores ambientais sobre o fenótipo, menor será a sua heritabilidade.

Os melhoradores, contudo, centram toda a sua atenção no potencial oculto da complexa componente genética, que quando trabalhada e combinada de forma inteligente, permite desenvolver variedades geneticamente superiores, capazes de responder de forma mais robusta e eficiente aos desafios alimentares trazidos pelas alterações climáticas. É a componente hereditária, normalmente denominada por **valor genético aditivo** ou, simplesmente, **valor genético**, que interessa estimar e usar como critério de seleção no programa de melhoramento, uma vez que representa o efeito aditivo médio dos genes que o indivíduo recebeu dos seus progenitores e que, como futuro progenitor, passará também à sua descendência. Os indivíduos que demostrem possuir um valor genético mais elevado num determinado contexto agronómico são selecionados pelo melhorador, para servirem de linhas parentais em cruzamentos futuros. Daqui irá resultar um ganho genético efetivo, ou seja, a produção de semente melhorada que reúne no seu **genoma** (ADN total) uma combinação de genes que soma o potencial agronómico superior proveniente de cada um dos seus progenitores.

## Previsão do valor genético por dados genealógicos

Num programa de melhoramento convencional, a determinação dos valores genéticos dos indivíduos que integram uma população em processo de melhoramento é normalmente efetuada no final de cada



**Figura 2 – Melhoramento genético aplicado ao parâmetro 'Produtividade'.** Distribuição populacional correspondente à Geração Parental (linha preta). Progenitores selecionados com produtividade alta/muito alta (Polígono sombreado a amarelo). Distribuição populacional correspondente à Geração Filial, ou seja, a descendência resultante dos cruzamentos artificiais entre progenitores selecionados (linha amarela).  $\bar{R}$  – Média da Geração Parental;  $\bar{F}$  – Média da Geração Filial;  $\bar{ps}$  – Média dos Progenitores Selecionados; Resposta à Seleção (R): Diferença entre a média da Geração Filial e a média da Geração Parental. Diferencial de Seleção (S): superioridade dos progenitores selecionados face à média populacional. Adaptado de [1]

ciclo de melhoramento, quando as variedades apresentam uma grande estabilidade genética e um comportamento agronómico homogéneo. Este método é, no entanto, muito moroso e atrasa o processo de seleção/cruzamento de novas linhas parentais. No entanto, esta desvantagem pode ser minimizada através da introdução de modelos estatísticos de previsão dos valores genéticos

$$\text{Fenótipo} = \text{Genótipo} + \text{Ambiente}$$

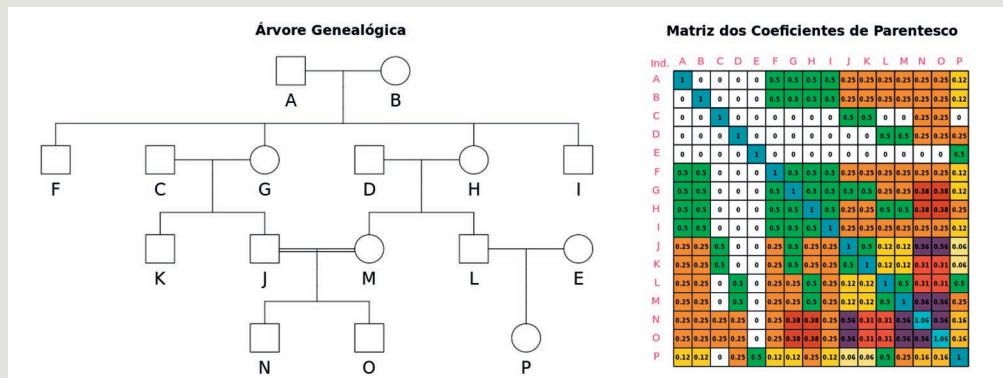
Efeitos Aditivos                          Efeitos Fixos  
Efeitos Não Aditivos                          Efeitos Variáveis

**Figura 3 – O fenótipo de um indivíduo depende de duas componentes fundamentais:** a combinação de genes que herdou dos seus progenitores (Genótipo) e as circunstâncias ambientais a que esteve exposto durante o seu desenvolvimento (Ambiente). A componente genética subdivide-se nos efeitos aditivos (valor genético aditivo) e nos efeitos não aditivos (dominância e epistasia). A componente ambiental subdivide-se nos efeitos fixos (efeitos constantes para toda a população) e nos efeitos variáveis (efeitos específicos de cada indivíduo).

cos para os diferentes indivíduos incluídos no programa de melhoramento. Através da estimativa do valor genético dos indivíduos é possível selecionar e cruzar mais cedo novas linhas parentais, encurtando significativamente o processo de melhoramento e acelerando a obtenção de novas variedades. Uma das formas de fazer esta previsão tem por base a genealogia dos indivíduos e denomina-se **Seleção por Pedigree**. Esta meto-

dologia cruza a informação de desempenho agronómico dos diferentes elementos de uma família, ao longo de várias gerações, e avalia o potencial genético de cada indivíduo, tendo em conta os diferentes graus de parentesco que este mantém com os restantes elementos da população. A precisão dessa estimativa depende, contudo, da observação rigorosa e do registo fenotípico completo dos indivíduos.

No início do programa de melhoramento, a estimativa dos valores genéticos baseia-se em dados recolhidos no campo para plantas individuais, que podem, ou não, ter uma relação de parentesco entre si. Mais tarde, a previsão dos valores genéticos passará pela agregação de informação proveniente das diferentes gerações ascendentes/descendentes e restantes parentes, depositada no registo genealógico de cada indivíduo, onde se inscreve e atualiza a estrutura familiar (Pedigree) e a identidade das diferentes linhas, decorrentes dos sucessivos ciclos de polinização e seleção. O registo genealógico (Figura 4A) – espelho da relação genética (aditiva) entre indivíduos – é, depois, convertido por meio de algoritmos computacionais, que observam as leis da hereditariedade, numa matriz de coeficientes de parentesco (Figura 4B). Todos os elementos desta matriz são, depois, correlacionados



**Figura 4 – A)** Árvore Genealógica da família X. □ – Indivíduos dadores de gâmetas masculinos; ○ – Indivíduos dadores de gâmetas femininos. Linha horizontal simples entre dois indivíduos: cruzamento não consanguíneo ou exogâmico. Linha horizontal dupla entre dois indivíduos: cruzamento consanguíneo ou endogâmico. Linha vertical: descendência ou prole. **B)** Matriz dos Coeficientes de Parentesco da família X. A matriz de coeficientes de parentesco estabelece o grau de proximidade genética entre um indivíduo e os restantes membros da sua família. Coeficientes mais comuns: 0 – sem parentesco; 0.03 – primos 2.º grau; 0.12 – primos 1.º grau/bisavô-bisneta; 0.25 – meios-irmãos/avô-neto/tio-sobrinho; 0.5 – pai-filho/irmãos; 1 – clones/próprio. Adaptado de [3]

com os dados fenotípicos de desempenho agronómico por meio de métodos bioestatísticos (e.g. Modelo de Previsão Linear BLUP – *Best Linear Unbiased Prediction* [2]), de onde resulta a estimativa do valor genético de cada indivíduo e o ganho genético associado à sua descendência.

### Previsão do valor genético por dados genómicos

Em 2001, investigadores na Holanda propuseram um novo método, para prever o valor genético dos indivíduos, que explora as tecnologias de sequenciação do ADN, e que vai diretamente à fonte da variabilidade genética – **Seleção Genómica** [4].

O ADN (abreviatura de ácido desoxirribonucleico) é um polímero orgânico formado pela combinação de quatro moléculas elementares (os **nucleótidos** A, C, G, e T) que codifica todas as instruções necessárias à vida. Está presente em todos os organismos vivos, dos mais simples (bactérias) aos mais complexos (Homem), e define, em cada um, um conjunto de atributos morfológicos e fisiológicos diferentes em função das diferentes instruções genéticas que cada um deles possui. A informação contida no ADN, numa analogia com a língua portuguesa, é escrita pelas quatro letras do alfabeto da genética, os nucleótidos. Quando combinados em sequências contínuas e de acordo com as regras do código genético (código ortográfico), os diferentes nucleótidos (letras) formam genes (palavras). O conjunto de todos os genes que escrevem a autobiografia específica de cada organismo vivo constitui o **genoma**. E, da mesma forma que a informação de um livro está dividida e organizada em vários capítulos, também a informação genética contida num determinado genoma está dividida e organizada em vários cromossomas. O tamanho do genoma varia consideravelmente com as diferentes espécies. No entanto, cada uma delas tem uma dimensão que lhe é característica – o genoma do trigo, p.e., é composto por cerca de 15 mil milhões de nucleótidos [5]. O estudo dos genomas (**genómica**) é uma competência da biologia moderna que utiliza ferramentas **bioinformáticas** para aceder à informação genética contida nos muitos milhões de nucleótidos de cada genoma e traçar o perfil genómico único de cada indivíduo, identificando-o como se fosse uma impressão digital. Através da sequenciação e análise genómica de duas variedades de trigo, por exemplo, é possível saber, objetivamente, onde é que estas variedades são diferentes e onde é que são iguais, por comparação das

suas sequências de ADN. As diferenças de ADN mais comuns são os **Polimorfismos de Um Nucleótilo** (do inglês **Single Nucleotide Polymorphism, SNP**), que são detetados sempre que existe um nucleótido diferente numa determinada posição do genoma (Figura 5A). Os polimorfismos de ADN, ou SNP, funcionam como **marcadores genéticos** que permitem

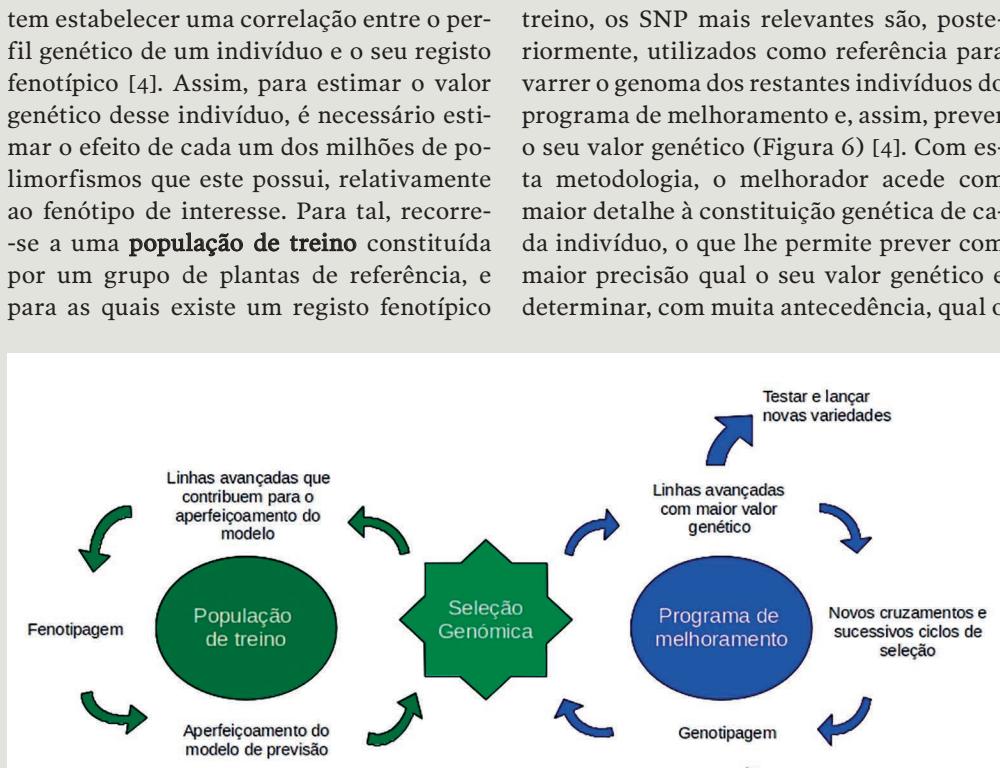
completo (Figura 6). O ADN da população de treino é sequenciado (Figura 5A) e com essa informação é construída uma matriz de polimorfismos (Figura 5B). O efeito de cada um dos marcadores na matriz é, depois, estimado por métodos estatísticos análogos aos implementados na Seleção por Pedigree [4]. Depois de identificados na população de

A	Ind	Genoma																											
		A	T	T	A	C	G	G	T	A	C	A	A	G	T	G	G	T	A	C	A	A	T	T	A	C	...		
	ref	A	T	T	A	C	G	G	T	A	C	A	A	G	T	G	G	T	A	C	A	A	T	T	A	C	...		
	A	A	T	T	A	C	G	G	T	A	C	A	A	G	T	G	G	T	A	C	A	A	T	T	A	C	...		
	B	T	T	T	A	C	G	G	T	A	C	A	A	G	T	G	G	T	A	C	A	A	T	T	A	C	...		
	C	A	T	T	A	C	G	G	T	A	C	A	A	G	T	G	G	T	A	C	A	A	T	T	A	C	...		
	D	A	T	T	A	C	G	G	T	A	C	A	A	G	T	G	G	T	A	C	A	A	T	T	A	C	...		
	E	A	T	T	A	C	G	G	T	A	C	A	A	G	T	G	G	T	A	C	A	A	T	T	A	C	...		
	F	A	T	T	A	C	G	G	T	A	C	A	A	G	T	G	G	T	A	C	A	A	T	T	A	C	...		
	G	T	T	C	A	G	G	T	A	A	A	T	G	T	G	G	T	A	C	A	A	T	T	A	C	...			
	H	T	T	C	A	G	G	T	A	A	A	T	G	T	G	G	T	A	C	A	A	T	T	A	C	...			
	I	A	T	T	A	C	G	G	T	A	C	A	A	G	T	G	G	T	A	C	A	A	T	T	A	C	...		
	J	A	T	C	C	T	C	A	A	T	C	C	A	A	G	T	G	G	T	A	C	A	A	T	A	C	...		
	K	T	T	T	A	A	G	G	T	A	C	A	A	G	T	G	G	T	A	C	A	A	T	T	A	C	...		
	L	A	T	T	A	G	G	T	A	C	G	T	G	G	T	A	C	A	T	C	A	A	T	T	A	C	...		
	M	A	T	C	C	G	G	T	A	C	G	T	G	G	T	A	C	A	T	C	A	A	T	T	A	C	...		
	N	A	T	C	C	G	G	T	A	C	G	T	G	G	T	A	C	A	T	C	A	A	T	T	A	C	...		
	O	A	T	C	C	G	G	T	A	C	G	T	G	G	T	A	C	A	T	C	A	A	T	T	A	C	...		
	P	A	T	T	A	C	G	G	T	A	C	A	A	G	T	G	G	T	A	C	A	A	T	T	A	C	...		

B	Ind	Matriz de Polimorfismos																												
		A	T	T	A	C	G	G	T	A	C	A	A	G	T	G	G	T	A	C	A	A	T	T	A	C	...			
	A	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	B	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	E	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	G	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	H	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	J	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	K	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	M	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	N	0	0	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	O	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

**Figura 5 - A)** Alinhamento das sequências de ADN para uma amostra do genoma da família X. Cada linha representa a sequência de ADN única de cada um dos indivíduos da família X (de indivíduo A ao P) para uma amostra do genoma. “ref” representa o genoma de referência para a espécie a que pertence a família X. Existem Polimorfismos de Um Nucleótilo (SNP) sempre que a sequência de ADN de um indivíduo difere da sequência de referência “ref” numa determinada posição do genoma. B) Matriz de polimorfismos (SNP) para a amostra do genoma da família X. Por comparação da sequência de ADN de cada indivíduo da família X com a sequência de referência “ref”, considera-se para cada posição do genoma o código: 0 - ausência de SNP, 1 - presença do SNP em cópia única (herdado de um dos progenitores), 2 - presença do SNP em cópia dupla (herdado de ambos os progenitores)



**Figura 6 -** Diagrama que resume a implementação da seleção genómica no programa de melhoramento genético. A população de treino é a população de referência a partir da qual são estimados os efeitos dos marcadores genéticos/SNP. Com essa informação, podem genotipar-se os restantes elementos da população no programa de melhoramento e inferir, com base nos marcadores que cada indivíduo possui, qual o seu valor genético. A implementação desta metodologia permite eliminar a etapa de fenotipagem do programa de melhoramento que, normalmente, precede a seleção de novas linhas parentais e acelerar o desenvolvimento de novas variedades. Adaptado de [6]

seu desempenho agronómico esperado. Em suma, enquanto na **Seleção por Pedigree** se utiliza o grau de parentesco entre indivíduos (Figura 4A) para construir a Matriz de Coeficientes de Parentesco (Figura 4B) e determinar o efeito genético aditivo associado ao fenótipo observado (Figura 3), na **Seleção Genómica** utiliza-se a Matriz de Polimorfismos (Figura 5B) conseguida pela sequenciação dos indivíduos da população (Figura 5A). Esta Matriz de Polimorfismos encerra dois tipos de informação muito importante: identifica, igualmente, as relações de parentesco entre os indivíduos, porque quanto mais próximos forem dois indivíduos geneticamente, maior será o número de polimorfismos partilhados; e evidencia, com maior precisão, as diferenças genéticas individuais que são responsáveis pela variabilidade fenotípica da população.

### Perspetivas

Com o objetivo de responder aos grandes desafios da agricultura moderna, e acelerar o desenvolvimento de novas variedades melhoradas, o INIAV está a implementar,

na Estação Nacional de Melhoramento de Plantas – Elvas, um programa de melhoramento de trigo com recurso à Seleção Genómica, através do projeto FASTBREED (ALT20-03-0145-FEDER-000018). Nesta fase, já se encontram caracterizadas as primeiras populações de treino e, enquanto corre a fase de determinação dos SNP, está a ser implementada, paralelamente, a Seleção por Pedigree. Espera-se que a aplicação dos modelos estatísticos de previsão, já descritos, ao programa nacional de melhoramento de trigo contribua significativamente para a adaptação da agricultura portuguesa aos desafios climáticos que se avizinharam. ☺

### Bibliografia

- [1] <https://www.studyblue.com/notes/note/n/vii-evolution-of-phenotype-quantitative-genetics/deck/14225674>.
- [2] Henderson, C.; (1975). Best Linear Unbiased Estimation and Prediction under a Selection Model. *Biometrics*, **31**(2):423-447.
- [3] <https://brainder.org/2015/07/29/understanding-the-kinship-matrix/>.
- [4] Meuwissen, T.H. et al. (2001). Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, **157**(4):1819-29.
- [5] International Wheat Genome Sequencing Consortium (2018). Shifting the limits in wheat research and breeding using a fully annotated reference genome. *Science*, **361**(6403):eaar7191.
- [6] Heffner, E.L. et al. (2009). Genomic Selection for Crop Improvement. *Crop Sci.*, **49**(1):1.

### Composição de Imagens

Figuras 1, 2 e 4 – Software de domínio público: R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>; R packages (<https://CRAN.R-project.org/>); Fig. 1: Ooms, J. (2018). *magick: Advanced Graphics and Image-Processing in R*. v2.0; Fig. 1, 2: Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York; Fig. 4A: Therneau, T.M.; Sinnwell, J. (2015). *kinship2: Pedigree Functions*. v1.6.4; Fig. 4B: Coster, A. (2013). *pedigree: Pedigree functions*. v1.4; Fig. 4B: Neuwirth, E. (2014). *RColorBrewer: ColorBrewer Palettes*. v1.1-2; Fig. 4B: Wei, T.; Simko, V. (2018). *corrplot: Visualization of a Correlation Matrix*. v0.85; Fig. 1: ícone de domínio público – Hołek (2007).

PUB

**FORMAÇÃO**

# VENDER E NEGOCIAR POR TELEFONE

| Potenciar as vendas por telefone

**LISBOA »**

**13 DE MAIO**



### PROGRAMA E INSCRIÇÕES

[www.ife.pt](http://www.ife.pt)  
[inscricoes@ife.pt](mailto:inscricoes@ife.pt)  
 210 033 800