

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CURSO DE MESTRADO**

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA EM ACESSOS DE PINHÃO MANSO POR
CARACTERES MORFOAGRONÔMICOS E MARCADORES ISSR**

CAMILA NOGUEIRA PESTANA CALDAS

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
MARÇO – 2015**

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA EM ACESSOS DE PINHÃO MANSO POR
CARACTERES MORFOAGRONÔMICOS E MARCADORES ISSR**

CAMILA NOGUEIRA PESTANA CALDAS

Bióloga

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2012

Dissertação submetida ao Colegiado de Curso do
Programa de Pós-Graduação em Recursos
Genéticos Vegetais da Universidade Federal do
Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e
Fruticultura, como requisito parcial para obtenção
do Grau de Mestre em Recursos Genéticos
Vegetais.

Orientadora: Prof.^a Dra. Simone Alves Silva

Co-orientadora: Prof.^a Dra. Edna Lôbo Machado

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
MESTRADO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CRUZ DAS ALMAS - BAHIA – 2015.

FICHA CATALOGRÁFICA

C145d

Caldas, Camila Nogueira Pestana.

Divergência genética em acessos de pinhão manso por caracteres morfoagronômicos e marcadores ISSR / Camila Nogueira Pestana Caldas. – Cruz das Almas, BA, 2015.

68f.; il.

Orientadora: Simone Alves Silva.

Coorientadora: Edna Lôbo Machado.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

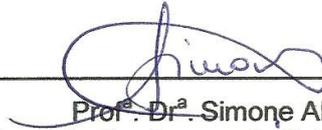
1.Pinhão manso – Cultivo. 2.Pinhão manso – Melhoramento genético. 3.Marcadores genéticos – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 633.85

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA CENTRO DE
CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CURSO DE MESTRADO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
CAMILA NOGUEIRA PESTANA CALDAS**



Prof. Dr.^a Simone Alves Silva
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia-UFRB
(Orientadora)



Prof. Dr. Renato Delmondez de Castro
Universidade Federal da Bahia-UFBA



Prof. Dr. Ricardo Franco Cunha Moreira
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia-UFRB

Dissertação homologada pelo Colegiado do Curso de Mestrado em Recursos
Genéticos Vegetais em,
conferindo o Grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais em

Aos meus pais, em especial minha mãe que despertou a guerreira em mim;
À minhas irmãs, Karla, Kátia, Renata e Rafaela, que amo muito.

Dedico

Ao meu esposo, Fábio, pelo seu amor, amizade e paciência;
À minha filha Sophia, amor que não se mede.

Ofereço

“Tudo posso naquele que me fortalece”

Filipenses 4:13

AGRADECIMENTOS

À Deus por me conceder a vida, me ensinando a lutar sempre para que possa alcançar meus objetivos. Dando-me força, coragem, determinação e perseverança na busca por meus ideais.

Aos meus pais, Antonio e Marinalva, pela luta ao longo de sua vida em prol da minha formação moral e intelectual e de todas minhas irmãs.

Ao meu esposo, Fábio, pelo seu amor, companheirismo, paciência e incentivo em todos os momentos.

Às minhas irmãs, Rosa Karla, Kátia, Renata e Rafaela pelo carinho e apoio.

Ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

À CAPES, pela concessão da bolsa de Mestrado.

À minha orientadora, Profa. Dra. Simone Alves Silva, pela confiança, apoio e ensinamentos na elaboração deste trabalho.

À Professora Dra. Edna Lôbo Machado, obrigada pelos ensinamentos e pela amizade.

À Dra. Elaine pela força e amizade concedida.

Ao grupo NBIO, em especial: Taty, Helison, Dyane, Vanessa, pelos momentos de descontração e aprendizagem durante os anos de convivência.

Muito obrigada a todos que aqui não foram citados, mas que, de alguma forma, contribuíram para realização deste trabalho.

SUMÁRIO

| | Página |
|---|--------|
| RESUMO | |
| ABSTRACT | |
| INTRODUÇÃO..... | 1 |
| Capítulo 1 | |
| DESEMPENHO E DISTÂNCIA GENÉTICA ENTRE ACESSOS DE PINHÃO MANSO POR MEIO DE CARACTERES MORFOAGRONÔMICOS..... | 15 |
| Capítulo 2 | |
| ANALISE CONJUNTA DE CARACTERES MORFOAGRONÔMICOS E MOLECULARES EM ACESSOS DE PINHÃO MANSO..... | 41 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 68 |

DIVERGÊNCIA GENÉTICA EM ACESSOS DE PINHÃO MANSO POR CARACTERES MORFOAGRONÔMICOS E MARCADORES ISSR

Autora: CAMILA NOGUEIRA PESTANA CALDAS

Orientadora: Simone Alves Silva

Co-orientadora: Edna Lôbo Machado

RESUMO: O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), espécie pertencente à família Euphorbiaceae, é de fácil propagação e de relevante importância social e econômica para o Brasil. É considerada como uma das plantas oleaginosas promissoras para produção de biodiesel, embora ainda permaneçam lacunas científicas necessárias as elucidações de bases genéticas e variabilidade da espécie a fim de seu melhoramento genético. Assim, este trabalho teve como objetivo analisar a divergência genética em 46 acessos de pinhão manso por meio de 12 descritores morfoagronômicos e 24 iniciadores ISSR. Na avaliação morfoagronômica, os acessos foram separados em dois grupos distintos de acordo com a distância genética. Na avaliação molecular, permitiram a obtenção de um total de 112 fragmentos sendo 94 polimórficos. Dados morfoagronômicos e moleculares foram utilizados para análise conjunta com formação de seis grupos divergentes. Os acessos demonstraram-se improdutivos, no ambiente em estudo, principalmente para o caráter produtividade de sementes por planta, indicando a necessidade urgente de novos cruzamentos genéticos e seleções para constituições genéticas superiores para a espécie. De acordo com os valores da matriz de dissimilaridade conjunta, os cruzamentos mais promissores, apontados pela análise conjunta, para futuras hibridizações, são entre os acessos UFRB60 x UFVJC45 e UFRB61 x UFVJC18. Os resultados demonstram que há variabilidade genética entre os acessos de *Jatropha curcas* L. pertencentes ao Banco de Germoplasma da UFRB (BAG UFRB/NBIO), demonstrando potencial destes para o programa de melhoramento genético da espécie. Estes estudos servirão de base para a tomada de decisões dentro do programa de melhoramento do pinhão manso da UFRB, visando o desenvolvimento de cultivares produtivas, com maior teor de óleo, resistentes e bem adaptadas.

Palavras-chave: Pinhão manso, melhoramento genético, variabilidade genética.

GENETIC DIVERGENCE OF ACCESS PHYSIC NUT CHARACTER AND MORPHOLOGICAL MARKERS ISSR

Author: CAMILA NOGUEIRA PESTANA CALDAS

Adivisor: Simone Alves Silva

Co-advvisor: Edna Lôbo Machado

ABSTRACT: The jatropha (*Jatropha curcas* L.), species of the Euphorbiaceae family, it is easy to spread and relevant social and economic importance to Brazil. It is considered as one of the promising oleaginous plants for biodiesel production, though still remain necessary scientific gaps elucidation of the genetic basis and variability of the species to genetic improvement. This work aimed to analyze the genetic diversity in 46 accessions of *Jatropha* through 12 morphological descriptors and 24 ISSR primers. In morphoagronomic evaluation, the accessions were separated into two groups according to genetic distance. In the molecular evaluation, allowed to obtain a total of 112 fragments with 94 polymorphic. Morphological and molecular data were used for an analysis with formation of six different groups. The accesses were proved unproductive, the environment being studied mainly for the character seed yield per plant, indicating the urgent need for new genetic crosses and selections for superior genetic constitutions for the species. The accesses were proved unproductive, the environment being studied mainly for the character seed yield per plant, indicating the urgent need for new genetic crosses and selections for superior genetic constitutions for the species. According to the values of the joint dissimilarity matrix, the most promising intersections, appointed by joint analysis for future hybridizations are among the accessions UFRB60 x UFVJC45 and UFRB61 x UFVJC18. The results show that there is genetic variability among the accessions of *Jatropha curcas* L. belonging to the Germplasm Bank of UFRB (BAG UFRB / NBIO), demonstrating their potential to the breeding program of the species. These studies will form the basis for making decisions within the *Jatropha* breeding program of UFRB, for the development of productive cultivars with higher content of oil, resistant and well adapted.

Keywords: *Jatropha curcas* L., breeding, genetic variability.

INTRODUÇÃO

A maior parte da energia consumida no mundo é proveniente de fontes não renováveis que estão em vias de esgotamento. Assim, faz-se necessária a busca por alternativas, tal como a produção de biodiesel a partir de óleos vegetais (AZEVEDO et al., 1997, ANP,2014).

Além de diminuir os impactos ambientais, a produção de biodiesel tem como base promover uma revolução no campo, gerando emprego, renda e desenvolvimento. Nesse cenário, o Brasil possui potencial para produção de biomassa como fonte energética tendo condições para se tornar um grande produtor (LIMA, 2004).

O governo brasileiro tem incentivado a pesquisa e a produção de biodiesel através da recomendação de algumas culturas oleaginosas, tais como: amendoim, mamona, soja, canola, dendê, babaçu e o pinhão manso, dentre outras. Cada cultura tem sua recomendação para uma região do país. Para a região Nordeste a mamona e o pinhão manso recebem destaque.

O pinhão manso representa uma boa alternativa para produção de biodiesel (OLIVEIRA et al.,2012, LAVIOLA et al., 2013) por ser uma espécie oleaginosa, de fácil propagação e que pode apresentar relevante importância social e econômica para a região Nordeste (SILVA et al., 2009), devida a sua alta produtividade e rusticidade aliada à qualidade do óleo extraído de suas sementes (OPENSHAW, 2000; SATURNINO et al., 2005, LAVIOLA et al., 2010b). Também, o pinhão manso tem a vantagem de não estar inserido em outras cadeias de produção, em especial as alimentares (LAVIOLA et al., 2010a). Suas sementes possuem um teor de óleo que varia entre 30 e 40%. Esse teor e óleo na semente pode ser afetado por fatores ambientais e ocorrência de pragas e doenças (FREITAS et al., 2011). O óleo do pinhão manso pode ser convertido em biodiesel via trans-esterificação (FOIDL et al.;1996, BASHA et al., 2009).

A espécie *Jatropha curcas*, tem sido vista como uma alternativa a agricultura familiar e aos programas de biodiesel (NUNES, 2007, LAVIOLA et al., 2013), devido, a cultura ser pouco mecanizada, o seu crescimento robusto e amadurecimento desuniforme dos frutos, desta forma, as áreas de plantio

são altamente dependentes de mão-de-obra para geração de emprego no campo (LAVIOLA et al., 2010b; LAVIOLA; ALVES, 2011) e auxilia na fixação de mão-de-obra na zona rural pela geração de emprego e fornecimento de matéria prima para a indústria (CARNIELLI, 2003; ARRUDA et al., 2004).

No entanto, somente a partir dos últimos 30 anos é que iniciaram estudos agronômicos sobre a espécie (SATURNINO et al., 2005; FAIRLESS, 2007; ACHTEN et al., 2008). Deste modo, aspectos agronômicos á respeito da espécie ainda devem ser melhor investigados (ACHTEN et al., 2010). Sendo que a espécie ainda se encontra em processo de domesticação (SATURNINO et al., 2005; FAIRLESS, 2007; ACHTEN et al., 2008; SATO et al., 2009, LAVIOLA et al., 2014), e ainda não existe cultivares e sistema de cultivo estabelecidos para as diferentes regiões produtoras no País (LAVIOLA et al., 2014). Diante do exposto, o desenvolvimento de cultivares de pinhão manso é essencial para a consolidação futura da espécie para a produção alternativa de biodiesel (DURÃES et al., 2011; LAVIOLA et al., 2013).

Como informações técnicas a respeito da cultura ainda são insuficientes e por vezes conflitantes, é de suma importância ressaltar a eminente necessidade de estudos desta espécie, tanto nas questões morfoagronômicas quanto nas análises moleculares para o estudo sobre a divergência genética da espécie visando contribuir para o melhoramento genético e exploração econômica da espécie.

Taxonomia, Origem e classificação botânica do pinhão manso

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), pertencente à família Euphorbiaceae, contém aproximadamente 8.000 espécies e 320 gêneros (BARROSO et al., 2007). Esta cultura é denominada, de acordo com as diferentes localidades encontradas, como pinhão manso, pinhão-branco, pinhão de purga e pinhão-paraguaio (Brasil); physic nut, purging nut (Inglaterra); tempate (Honduras e El Salvador); médicinier, pignon d'Indi, purghere (França); kadan (Nepal) yu-lu-tsu (China); mupuluka (Angola); butuje (Nigéria) e piñoncillo (México) (NUNES, 2007).

Há controvérsias quanto ao seu centro de origem, no entanto, acredita-se que seja originário da América Central com ocorrência em todas as regiões intertropicais e até mesmo em zonas temperadas (BHERING et al., 2013) com centro de origem localizado no México (HEIFFIG e CÂMARA, 2006; FAIRLESS, 2007). No Brasil, sua distribuição geográfica é bastante ampla, segundo Arruda et al. (2004); Saturnino et al. (2005), Laviola et al. (2013) pode ser devido à sua rusticidade e adaptabilidade a diferentes condições de ambiente e clima.

O pinhão manso é uma planta monóica, alógama, autocompatível e necessita de polinizadores (CHANG-WEI et al., 2007; PAIVA NETO et al., 2010). A espécie é diplóide ($2n=2x=22$) com um genoma composto de 0,85 pg DNA/2C com 38,7% de bases GC em 5 cromossomos metacêntricos e 6 submetacêntricos (CARVALHO et al., 2008).

A planta pinhão manso é uma arvoreta caracterizada principalmente por ser uma espécie perene, caducifólia, com crescimento rápido que pode atingir mais de cinco metros de altura. O diâmetro do tronco pode alcançar cerca de 20 cm; possui raízes curtas e pouco ramificadas, caule liso, de lenho pouco resistente e medula desenvolvida; os frutos são do tipo cápsula, ovóide, com 1,5 a 3,0 cm de diâmetro, trilocular, contendo três sementes, sendo uma semente por lóculo (ARRUDA et al., 2004). A semente é relativamente grande, medindo em torno de 1,5 a 2,0 cm de comprimento e 1 a 1,3 cm de largura, apresentam teor de óleo variando entre 30 e 40% (FREITAS et al., 2011) e representam entre 53 e 79 % do peso do fruto (SATURNINO et al., 2005; DIAS et al., 2007; ARRUDA et al., 2004).

Importância econômica do pinhão manso

O pinhão manso é uma espécie oleaginosa, de fácil propagação e que pode apresentar relevante importância social e econômica para o Brasil (SILVA et al., 2009). Também, essa cultura é considerada uma das mais promissoras fontes de combustível alternativos aos derivados do petróleo (SATURNINO et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2012; LAVIOLA et al., 2013), devido promover a

redução dos gases que corroboram com o efeito estufa (ACKON e ERTEL, 2005, MATOS et al., 2009).

Por outro lado, dados de produtividade do pinhão manso e seus componentes são incipientes e faltam informações científicas sobre o comportamento nas diferentes regiões brasileiras em que está sendo cultivado. (BELTRÃO et al., 2006; BRASILEIRO, 2010, ROSADO et al., 2010).

Segundo LAVIOLA et al., 2010a, LAVIOLA et al., 2013 o cultivo do pinhão manso apresenta alto rendimento proporcionando à espécie grande potencial de uso no Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel. No entanto, resultados de pesquisa (EVANGELISTA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2012) indicam que para se obter alto rendimento de sementes e óleo, a planta necessita de quantidade de água adequada e solos férteis e com boas condições físicas.

Além disso, ainda há relatos de que o pinhão manso é considerado uma cultura de fácil cultivo, baixo custo de produção, boa adaptabilidade e com diversas aplicabilidades medicinais e ornamentais (NUNES, 2007, LAVIOLA et al., 2013), (ARRUDA et al., 2004; SATURNINO et al., 2005; DIAS et al., 2007, LAVIOLA et al., 2013).

Estas informações ainda se controvertem, visto existirem trabalhos com relato de baixo rendimentos e pouca adaptabilidade da cultura (EVANGELISTA et al., 2011), requerendo mais estudos científicos sobre a produtividade do pinhão manso em diferentes regiões do Brasil e sua comparação com demais países produtores da espécie.

O Nordeste possui uma região semiárida com poucas opções agrícolas rentáveis que sustentem os produtores nas áreas rurais (SUDENE, 1996). Outro ponto importante, é que a cultura é pouco mecanizada, devido o seu crescimento robusto e amadurecimento desuniforme dos frutos, desta forma, as áreas de plantio são altamente dependentes de mão-de-obra, o que por sua vez gera emprego no campo (LAVIOLA et al., 2010b; LAVIOLA; ALVES, 2011) e auxilia na fixação de mão-de-obra na zona (CARNIELLI, 2003; ARRUDA et al., 2004).

Marcadores moleculares ISSR para análise da variabilidade genética

Os marcadores moleculares podem ser utilizados como ferramentas importantes em diversos estudos, permitindo avaliar, em prazo relativamente curto, um número elevado de genótipos.

Os marcadores moleculares apresentam características tais como alto grau de polimorfismo (SANTANA et al., 2011), não sofrerem influência do ambiente, de efeitos pleiotrópicos ou epistáticos (CUNHA et al., 2006). Também, podem detectar variabilidade no genoma independente do estágio de desenvolvimento da planta (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 2008).

Marcadores ISSR (seqüências simples repetitivas internas) vem sendo utilizados (SUN et al., 2008, PAMIDIMARRI et al., 2010, GRATIVOL et al., 2011) para a diferenciação rápida entre indivíduos aparentados, devido ao elevado grau de polimorfismo, reprodutibilidade e baixo custo (BORBA et al., 2005, SANTANA et al., 2011). Também, são amplamente usados em razão da eficiência na análise da variabilidade genética (ROSSI et al., 2009) bem como, em aplicações na genética de populações, identificação de cultivares, no estudo de fluxo gênico e análise de paternidade (REDDY; SARLA; SIDDIQ, 2002), e ainda, em estudos filogenéticos, mapeamento genético e biologia evolucionária.

O ISSR é um marcador dominante de sequência simples repetida, presente entre duas seqüências idênticas de microssatélites, orientadas em direções opostas (BORNET; BRANCHARD, 2001; REDDY; SARLA; SIDDIQ, 2002). Os *primers* podem conter repetições di-, tri-, tetra- ou penta-nucleotídicas, e podem estar desancorados ou ancorados na extremidade 5' ou 3' por 1 a 4 bases degeneradas (ZIETKIEWICZ; RAFALSKI; LABUDA, 1994; GUPTA et al., 1994). As repetições di-nucleotídicas quando ancoradas na região 3' ou 5' também revelam alto polimorfismo (BLAIR; PANAUDO; MCCOUCH, 1999; JOSHI et al., 2000). Os produtos de amplificação incluem a sequência de microssatélite e suas variações de tamanho no genoma, desse modo, fornecem maior grau de polimorfismo e o número de bandas também aumenta (REDDY; SARLA; SIDDIQ, 2002).

O tamanho dos *primers* ISSR varia entre 16 a 25 bases, e os produtos amplificados pode variar entre 200 a 2000 pb, tanto em gel de agarose quanto em gel de poliacrilamida (REDDY; SARLA; SIDDIQ, 2002).

Nos últimos anos foram realizados diversos estudos de caracterização genotípica do pinhão manso por meio de marcadores moleculares. Trabalhos de caracterização molecular do pinhão manso realizados nos BAG da China (SUN et al., 2008) e Índia (PAMIDIMARRI et al., 2010) encontraram baixa variabilidade entre os acessos avaliados. Resultados similares foram encontrados em estudos realizados no Brasil por Rosado et al. (2009). Em controvérsia, através da caracterização molecular por meio de marcadores ISSR He et al. (2007) encontraram alto nível de polimorfismo entre oito populações de pinhão manso estudadas. Também, Grativol et al. (2011), trabalhando com marcadores ISSR, concluíram que os acessos brasileiros estudados possuem alto polimorfismo (91%) e alta diversidade genética (0,4340).

Melhoramento genético do pinhão manso

A espécie *Jatropha curcas* ainda encontra-se em processo de domesticação e não existe cultivares consolidadas (DURÃES et al., 2011; LAVIOLA et al., 2014). Os trabalhos de melhoramento estão em fase inicial de desenvolvimento, principalmente devido alguns atributos agronômicos não alcançados como a desuniformidade na maturação dos frutos, o uso econômico da torta, produção irregular, safra não definida, entre outros (DURÃES et al., 2011; BRASILEIRO et al., 2012; OLIVEIRA, 2013). Portanto, é importante que os materiais sejam avaliados em diferentes regiões com potencial para cultivo (LAVIOLA et al., 2010b). Neste sentido, a rede de pesquisa do projeto Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação em Pinhao-Manso para a Produção de Biodiesel vêm realizando ensaios em diferentes instituições de pesquisa, com o objetivo de selecionar plantas adaptadas a diferentes regiões do Brasil (LAVIOLA et al., 2013).

Apesar do pinhão manso está presente em diversas partes do Brasil e do mundo, o seu cultivo foi fortemente estimulado sem o conhecimento agrônomo da espécie e diversidade genética limitada (ROSADO et al., 2010).

O sucesso do seu cultivo ainda depende do desenvolvimento de técnica agrônoma para auxiliar na obtenção de altas taxas de produtividades nas diferentes regiões do Brasil (FREITAS et al., 2011; LAVIOLA et al., 2012; OLIVEIRA, 2013). Sendo assim, o estabelecimento de cultivares é importante para o pinhão manso se consolidar no futuro como fonte alternativa para a produção de biodiesel (DURÃES et al., 2011; BRASILEIRO et al., 2012; LAVIOLA et al., 2013; OLIVEIRA, 2013).

O conhecimento sobre a divergência genética de pinhão manso no Brasil faz-se necessário, visando identificar o quanto uma constituição genética se difere da outra para seleção dos divergentes e com bom desempenho morfoagronômicos, como também direcionar a novas hibridações, visando gerar variabilidade, formação de clones e/ou híbridos da espécie.

Frente a esta situação da cultura do pinhão manso, houve interesse da comunidade científica do Brasil e de outros países à realização de estudo, através de coleta dentro do seu território e ao redor do mundo, com a finalidade de conhecer a diversidade genética dessa espécie (SATURNINO et al., 2005; FREITAS et al., 2011). Desta forma, as atividades de pré-melhoramento são de suma importância para auxiliar na atualização prática dos recursos genéticos e ampliar a base genética dos programas de melhoramento (OLIVEIRA, 2013).

Assim, para o programa de melhoramento genético do pinhão manso, obter sucesso, depende da existência da variabilidade genética do germoplasma, da realização de algumas etapas fundamentais como: atividades de coleta, introdução, caracterização, avaliação, conservação de germoplasma, hibridações, visando a identificação de caracteres de interesse morfoagronômico (BORÉM e MIRANDA, 2005; NASS et al. 2007) que venham a contribuir com o avanço de cultivos agrícolas da espécie e a mesma se consolidar como cultura oleaginosa de importância econômica e cultural no Brasil e no Mundo.

Embora, algumas das características botânicas da cultura do pinhão manso já foram documentadas, a espécie ainda não tem sua caracterização

completa, o que requer estudos desta natureza, envolvendo sua caracterização fenotípica e genotípica do pinhão manso (GUERRERO, 2010; LAVIOLA, 2010, BRASILEIRO et al., 2012; OLIVEIRA, 2013). Os programas de melhoramento genético para a espécie procuram-se selecionar constituições genéticas superiores, mais adaptadas a diversas condições de ambiente de cultivo e com aumento em sua produtividade e atributos agronômicos responsáveis por um maior rendimento de óleo e seus subprodutos.

Portanto, a caracterização morfoagronômica do pinhão manso é uma importante ferramenta para a obtenção de informações genéticas sobre o fenótipo, de modo a identificar genótipos com constituições genéticas distintas. Portanto, estudos sobre caracterização e avaliação de germoplasmas são essenciais para os programas de melhoramento genético, possibilitando a identificação e seleção de acessos com características superiores, distintas e herdáveis.

Neste contexto, o trabalho teve como objetivo estudar o desempenho e a divergência genética de acessos de *Jatropha curcas* L. quanto aos caracteres morfoagronômicos e dados moleculares ISSR, visando auxiliar no programa de melhoramento genético da espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHTEN, W.M.J.; NIELSEN, L.R.; AERTS, R.; LENGKEEK, A.G.; KJAER, E.D.; TRABUCO, A.; HANSEN, J.K.; MAES, W.H.; GRAUDAL, L.; AKINNIFESI, F.; MUYS, B. Towards domestication of *Jatropha curcas*. **Biofuels**, v.1, p.91-107, 2010.

ACHTEN, W.M.J.; MATHIJS, E.; VERCHOT, L.; SINGH, V.P.; AERTS, R.; MUYS, B. *Jatropha* bio-diesel production and use. **Biomass & Bioenergy**, v.32, p.1063-1084, 2008.

ACKOM, E. K., ERTEL, J. An alternative energy approach to combating desertification and promotion of sustainable development in droughtregions. In: FORUM DER FORSCHUNG, 18, 2005, Eigenverlag. **Anais...** Eigenverlag: BTU Cottbus, 2005, p. 74-78.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. **Boletim Mensal do Biodiesel**, Setembro de 2014.

ARRUDA, F. P. et al. Cultivo de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semi-árido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibras**, Campina Grande, v. 8, n. 1, p. 789-799, 2004.

AZEVEDO, D. M. P.; LIMA, E. F.; BATISTA, F. A. S. **Recomendações técnicas para o cultivo da mamoneira (*Ricinus communis* L.) no Nordeste do Brasil**. Campina Grande, PB: MAARA/Embrapa-CNPA, (Circular técnico, 25), 52p,1997.

BARROSO, G. M., ICHASO, C. L. F., GUIMARÃES, E. F. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Imprensa Universitária,v.1, Universidade Federal de Viçosa. p.309. 2007.

BASHA, S. D.; FRANCIS, G.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K.; SUJATHA, M. A comparative study of biochemical traits and molecular markers for assessment of genetic relationships between *Jatropha curcas* L. germplasm from different countries. **Plant Science**, Limerick, v. 176, p.812-823, 2009.

BELTRÃO, N. M.; SEVERINO, L. S.; VELOSO, J. F.; JUNQUEIRA, N.; FIDELIS, M.; GONÇALVES, N. P.; SATURNINO, H. M.; ROSCOE, R.; GAZZONI, D.; DUARTE, J. O.; DRUMOND, M. A.; ANJOS, J. B. **Alerta sobre o plantio do Pinhão Manso no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão. (Embrapa Algodão. Documentos, 155). p. 16, 2006.

BHERING, L.L.; BARRERA, C.F.; ORTEGA, D.; LAVIOLA, B.G.; ALVES, A.A.; ROSADO, T.B.; CRUZ, C.D. Differential response of *Jatropha* genotypes to different selection methods indicates that combined selection is more suited

than other methods for rapid improvement of the species. **Industrial Crops and Products**, v.41, p.260-265, 2013.

BLAIR, M. W.; PANAUD, O.; MCCOUCH, S. R. Inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of microsatellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 98, p. 780–792, 1999.

BORBA, R. DA S.; GARCIA, M. S.; KOVALLESKI, A.; OLIVEIRA, A. C.; ZIMMER, P. D.; BRANCO, J. S. C.; MALONE, G. Dissimilaridade genética de linhagens de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) através de marcadores moleculares ISSR. **Neotropical Entomology**, n.34, p.565-569. 2005.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. 4. ed. rev. amp. Viçosa: UFV, 2005. 525p.

BORNET, B.; BRANCHARD, M. Nonanchored inter simple sequence repeat (ISSR) markers: reproducible and specific tools for genome fingerprinting. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 19, p. 209–215, 2001.

BRASILEIRO, B. P.; SILVA, A. S.; SOUZA, D. R.; OLIVEIRA, R. S.; SANTOS, P. A. Conservação de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) no estado da Bahia, Brasil. **Magistra** v. 24, n. 4 p. 286-292, 2012.

BRASILEIRO, B. P. **Conservação e melhoramento genético do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), brasil**. 2010. 83f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, 2010.

CARNIELLI, F. O combustível do futuro, 2003. Disponível em <https://www.ufmg.br/boletim/bol1413>. Acesso em: 28 maio, 2013.

CARVALHO, C. R, CLARINDO W. R, PRAÇA M. M, ARAÚJO F. S, CARELS N. Genome size, base composition and karyotype of *Jatropha curcas* L. an important biofuel plant. **Plant Science**. v. 174 p. 613–617, 2008.

CHANG-WEI, L.; KUN, L.; YOU, C.; YONG-YU, S. Floral display and breeding system of *Jatropha curcas* L. **Forestry Studies in China**, v. 9, n. 2, p. 114–119, 2007.

CUNHA, M. A. S. SALES, J. S.; MORAIS, T. A.; RAMALHO NETO, C. E. Variabilidade genética de *Ricinus communis* L revelada por marcadores RAPD. In: congresso brasileiro de mamona, 2., 2006, Aracaju. **Anais**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros. 1 CD-ROM, 2006.

DIAS, L.A.S.; LEME, L.P.; LAVIOLA, B.G.; PALLINI FILHO, A.; PEREIRA, O.L.; CARVALHO, M.; MANFIO, C.E.; SANTOS, A.S.; SOUSA, L.C.A.; OLIVEIRA, T.S. & DIAS, D.C.F.S. **Cultivo de pinhao-manso (*Jatropha curcas* L.) para producao de oleo combustivel**. Vicosa, 2007. v.1, 40p.

DURÃES, F.O.M.; LAVIOLA, B.G.; ALVES, A.A. Potential and challenges in making physic nut (*Jatropha curcas* L.) a viable biofuel crop: the Brazilian perspective. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, **Veterinary Science**, Nutrition and Natural Resources, v.6, n.043, 2011.

EVANGELISTA, A. W. P.; MELO, P. C.; OLIVEIRA, E. L.; FARIA, M. A. Produtividade e rendimento de sementes de pinhão-mansô submetido à irrigação e adubação com OMM-Tech. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 31, n. 2, p. 315-323, 2011.

FAIRLESS, D. Biofuel: the little shrub that could – maybe. **Nature**, v.449, p.652-655, 2007.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: Embrapa Cenargen, 3.ed., p.220., 2008.

FREITAS, R. G.; MISSIO, R. F.; MATOS, F. S.; RESENDE, M. D. V.; DIAS, L. A. S. Genetic evaluation of *Jatropha curcas*: an important oilseed for biodiesel production. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, p. 1490–1498, 2011.

FOIDL, N.; FOIDL, G.; SANCHEZ, M.; MITTELBAACH, M.; HACKEL, S. *Jatropha curcas* L. as a source for the production of biofuel in Nicaragua. **Bioresource Technology**, New York, v. 58, p.77-82, 1996.

GRATIVOL, C.; MEDEIROS, C. F. L.; HEMERLY, A. S.; FERREIRA, P. C. G. High efficiency and reliability of inter-simple sequence repeats (ISSR) markers for evaluation of genetic diversity in Brazilian cultivated *Jatropha curcas* L. accessions. **Molecular Biology Reporter**, v. 38, p. 4245–4256, 2011.

GUERRERO, J. A. **Caracterización Morfológica y Agronómica de la Colección Nacional e Germoplasma del Piñón (*Jatropha curcas* L.)**. 2010. 150f. Tese (Doutorado) - Corpoica-La Libertad. Universidad de los llanos (Unillanos). Villavicencio, Colombia. 2010.

GUPTA, M.; CHYI, Y.; S.; ROMERO-VERSON, J.; OWEN, J.; L. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single *primers* of simple-sequence repeats. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 89, p. 998–1006, 1994.

HE, W.; GUO, L.; WANG, L.; YANG, W.; TANG, L.; CHEN, F. ISSR analysis of genetic diversity of *Jatropha curcas* L. Chinese **Journal Application Environmental Biology**, v. 13, p. 466–470, 2007.

HEIFFIG, L. S.; CÂMARA, G. M. S. Potencial da cultura do pinhão- mansô como fonte de matéria prima para o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel. In: CÂMARA, G. M. S.; HEIFFIG, L. S.(Org.). **Agronegócio de**

Plantas Oleaginosas: matérias- primas para biodiesel. Piracicaba. ESAL, 2006.p.105-121.

JOSHI, S. P.; GUPTA, V. S.; AGGARWAL, R. K.; RANJEKAR, P. K.; BRAR, D. S. Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 100, p. 1311–1320, 2000.

LAVIOLA, B. G.; SILVA, S. D. A.; JUHÁSZ, A. C. P.; ROCHA, R. B.; OLIVEIRA, R. J. P.; ALBRECHT, J. C.; ALVES, A. A.; ROSADO, T. B., Desempenho agrônômico e ganho genético pela seleção de pinhão-manso em três regiões do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.**, Brasília, v.49, n.5, p.356-363, 2014.

LAVIOLA, B.G.; ALVES, A.A.; ROCHA, R.B.; DRUMOND, M.A. . In: CARELS, N.;SUJATHA, B.; BAHADUR, B. (Ed.). **Jatropha, challenges for a new energy crop. Volume 1:** farming, economics and biofuel. New York: Springer, 2013. p.71-94.

LAVIOLA, B. G.; ALVES, A. A. Matérias-primas oleaginosas para biorrefinarias. In: VAZ JUNIOR, S. (Ed.). Biorrefinarias: cenários e perspectivas. Brasília, DF: **Embrapa Agroenergia**, 2011. p. 29-43.

LAVIOLA, B. G. **Diretrizes para o melhoramento de pinhão manso visando a produção de biocombustíveis.** 2010. Disponível em <http://www.infobibos.com/Artigos/2010_1/DiretrizesPinhaoManso/index.htm> Acesso em 29 de agosto de 2014.

LAVIOLA, B.G.; BHERING, L.L.; ALBRECHT, J.C.; ROSADO, L.T.B.; ARQUES, S.S.; MARANA, J.C.;RIBEIRO, J.A.A. Caracterização do banco de ermo-plasma de pinhao•manso: resultados do 1º ano de avaliação. Brasília: Embrapa Agroenergia, 2010 a. 8p. **Embrapa Agroenergia.** (Comunicado técnico, 3).

LAVIOLA, B. G.; ROSADO, T. B.; BHERING, L. L.; KOBAYASHI, A. K. ; RESENDE, M. D. V. Genetic parameters and variability in physic nut accessions during early developmental stages. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, p.1117-1123, 2010 b.

LAVIOLA, B. G.; BHERING, L. L.; ALBRECHT, J. C.; MARQUES, S. S.; ROSADO, T. B. Caracterização morfoagronômica do banco de germoplasma de pinhão manso. In: Congresso Bras. PI. oleaginosas, óleos, gorduras e biodisel, 6., 2009, Montes Claros. **Anais...** Lavras: UFLA, 2009. v. 6.

LIMA, P.C.R. **O biodiesel e a inclusão social.** Brasília. Consultoria Legislativa. 2004. 33p.

MATOS, F. S., MOREIRA, C. V., MISSIO, R. V., DIAS, L. A. S., Caracterização fisiológica de mudas de *Jatropha curcas* L. produzidas em diferentes níveis de

irradiância. **Revista Colombiana de Ciências Hortícolas** - v.3, n.1, p.126-134, 2009.

NASS, L. L.; PEREIRA, P. A. A.; ELLIS, D. Biofuels in Brazil: Na Overview. **Crop Science**, v. 47, p. 2228-223, nov-dez, 2007.

NUNES, C. F. **Caracterização de frutos, sementes e plântulas e cultivo de embriões de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.)**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. 2007, 78p.

OLIVEIRA, M.M. **Caracterização agrônômica em banco de germoplasma de pinhão manso no recôncavo baiano**. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais-RGV). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia-UFRB. Cruz das Almas- BA, p. 71, 2013.

OLIVEIRA, E. L., FARIA, M. A., EVANGELISTA, A. W. P. & MELO, P. C. Resposta do pinhão-manso à aplicação de níveis de irrigação e doses de adubação potássica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 16(6): 593-598, 2012.

OPENSHAW, K. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. **Biomass & Bioenergy**, v.19, p.1-15, 2000.

PAIVA NETO, V. B.; BRENHA, J. A. M.; FREITAS, F. B.; ZUFFO, M. C. R.; ALVAREZ, R.C.F. Aspectos da biologia reprodutiva de *Jatropha curcas* L. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 3, p. 558-563, 2010.

PAMIDIMARRI, D. V. N. S.; MASTAN, S. G.; RAHMAN, H.; REDDY, M. P. Molecular characterization and genetic diversity analysis of *Jatropha curcas* L. in India using RAPD and AFLP analysis. **Molecular Biology Report**, v. 37, p. 2249–2257, 2010.

REDDY, M. P.; SARLA, N.; SIDDIQ E. A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica**, v. 128, p. 9–17, 2002.

ROSADO, T. B.; LAVIOLA, B. G.; FARIA, D. A.; PAPPAS, M. R.; BHERING, L. L.; QUIRINO, B. F.; GRATTAPAGLIA, D. Molecular markers reveal limited genetic diversity in a large germplasm collection of the biofuelcrop *Jatropha curcas* L. in Brazil. **Crop Science**, Madison, v.50, p. 2372-2382, 2010.

ROSADO, T. B.; LAVIOLA, B. G.; FARIA, D. A.; PAPPAS, M. R.; BHERING, L. L.; QUIRINO, B. F.; GRATTAPAGLIA, D. **Avaliação da Diversidade Genética do Banco de Germoplasma de Pinhão manso por Marcadores Moleculares**. Brasília: Embrapa Agroenergia, p. 16, 2009. (Embrapa Agroenergia, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 1).

ROSSI, A. A. B.; OLIVEIRA, L. O.; VENTURINI, B. A.; SILVA, R. S. Genetic diversity and geographic differentiation of disjunct Atlantic and Amazonian

populations of *Psychotria ipecacuanha* (Rubiaceae). **Genética**, v. 136, p. 57–67, 2009.

SANTANA, I. B. B., OLIVEIRA, E. J., SOARES FILHO, W. S. RITZINGER, R.; AMORIM, E. P.; COSTA, M. A. P. C.; MOREIRA, R. F. C. et al. Variabilidade genética entre acessos de Umbu-Cajazeira mediante análise de marcadores ISSR. **Revista Brasileira de Fruticultura** [online]. 2011, vol.33, n.3, pp. 868-876. Epub Sep 02, 2011.

SATO, M.; BUENO, O. C.; ESPERANCINIS, M. S. T.; FRIGO, E. P. A cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.): uso para fins combustíveis e descrição agrônômica. *Revista Varia Scientia*, v. 7, n. 13, p. 47-62. 2009.

SATURNINO, H. M. et al. Cultura do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 229, p. 44-78, 2005.

SILVA, E.B.; TANURE, L.P.P.; SANTOS, S.R.; RESENDE JÚNIOR, P.S.de. Sintomas visuais de deficiências nutricionais em pinhão manso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.4, p.392-397, 2009.

SOARES,B.O. **Diversidade Genética de Genótipos de Pinhão manso por meio de RAPD e ISSR**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Estadual de Montes Claros- Unimontes. Janaúba- MG, p. 54, 2010.

SUDENE. Pacto Nordeste: ações estratégicas para um salto do desenvolvimento regional. Recife, 1996. 77p.

SUN, Q. B.; LI, L. F.; LI, Y.; WU, G. J.; GE, X. J. SSR and AFLP markers reveal low genetic diversity in the biofuel plant: *Jatropha curcas* in China. **Crop Science**, Madison, v.48, . p. 1865-1871, 2008.

ZIETKIEWICZ, E.; RAFALSKI, A.; LABUDA, D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomics**, v. 20, p. 176–183, 1994.

CAPÍTULO 1

DESEMPENHO E DISTÂNCIA GENÉTICA ENTRE ACESSOS DE PINHÃO MANSO POR MEIO DE CARACTERES MORFOAGRONÔMICOS

DESEMPENHO E DISTÂNCIA GENÉTICA ENTRE ACESSOS DE PINHÃO MANSO POR MEIO DE CARACTERES MORFOAGRONÔMICOS

Autora: CAMILA NOGUEIRA PESTANA CALDAS

Orientadora: Simone Alves Silva

Co-orientadora: Edna Lôbo Machado

RESUMO: Objetivou-se a caracterização do desempenho e avaliação da distância genética de acessos de pinhão manso por meio de descritores morfoagronômicos. Para tanto, foram realizadas três avaliações em um total de 46 acessos de pinhão manso, nos períodos de fevereiro, junho e dezembro de 2013, com a aplicação de 12 descritores. Para a análise dos desempenhos morfoagronômicos dos acessos foi utilizado à análise de variância e comparação de médias por Scott & Knott a 5% de probabilidade. A dissimilaridade genética entre os genótipos foi calculada a partir do índice de dissimilaridade de Mahalanobis, utilizando-se o método de agrupamento UPGMA. Os acessos demonstraram-se improdutivos, no ambiente em estudo, principalmente para o caráter produtividade de sementes por planta, indicando a necessidade urgente de novos cruzamentos genéticos e seleções para constituições genéticas superiores para a espécie. O dendrograma possibilitou a separação dos 46 acessos de pinhão manso em dois grupos distintos, mostrando que há dissimilaridade genética entre eles, sendo os acessos UFRB43 e UFVJC19, pertencentes ao grupo 2, como importantes para hibridações com os demais genótipos do grupo 1. De acordo com a distância genética, os acessos mais distantes foram UFRB27 e UFVJC18, UFRB 55 e UFVJC19, UFRB22 e UFVJC18, UFRB41 e UFVJC19, sendo indicados como os cruzamentos mais promissores para futuras hibridações dentro do programa de melhoramento genético do pinhão manso na região do Recôncavo da Bahia.

Palavras-chave: Descritores, Biodiesel, Banco de germoplasma.

PERFORMANCE AND GENETIC DISTANCE BETWEEN PHYSIC NUT OF ACCESS CHARACTER THROUGH MORPHOLOGICAL

Author: CAMILA NOGUEIRA PESTANA CALDAS

Adivisor: Simone Alves Silva

Co-advvisor: Edna Lôbo Machado

ABSTRACT: This study aimed to characterize the performance and evaluation of genetic distance of jatropha access through morphological descriptors. To this end, three evaluations were conducted in a total of 46 access jatropha, in periods of February, June and December 2013, with the application of 12 descriptors. For the analysis of morphological performances of access we were used to analysis of variance and mean comparison by Scott & Knott at 5% probability. The genetic dissimilarity among the genotypes was calculated from the dissimilarity index of Mahalanobis, using the UPGMA clustering method. The accesses were proved unproductive, the environment being studied mainly for the character seed yield per plant, indicating the urgent need for new genetic crosses and selections for superior genetic constitutions for the species. The dendrogram allowed the separation of 46 Jatropha accessions into two distinct groups, showing that there is genetic dissimilarity among them being the UFRB43 and UFVJC19 access, belonging to the group 2 as important for hybridization with other genotypes in group 1. According to the genetic distance, the farthest accesses were UFRB27 and UFVJC18, UFRB 55 and UFVJC19, UFRB22 and UFVJC18, UFRB41 and UFVJC19, being indicated as the most promising crosses for future hybridization in the breeding program of jatropha in the region Reconcavo of Bahia.

Keywords: Descriptors, biodiesel, germplasm bank.

INTRODUÇÃO

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie pertencente à família das Euforbiáceas e tem sido caracterizada como planta rústica e sua adaptabilidade as diferentes condições ambientais (ARRUDA et al., 2004; SATURNINO et al., 2005; DIAS et al., 2007; LAVIOLA et al., 2013). Também, o pinhão manso foi relatado como cultura que apresenta melhor comportamento em solos profundos, bem estruturados e pouco compactados, permitindo o sistema radicular desenvolver-se e explorar um maior volume de solo, satisfazendo a necessidade da planta em água e nutrientes (DRUMOND et al., 2007).

É uma planta oleaginosa de fácil propagação (SILVA et al., 2009; BRASILEIRO et al., 2012) e que pode apresentar relevante importância social e econômica para o Brasil (SILVA et al., 2009) por ser considerada uma oleaginosa promissora para produção de biodiesel (fontes de combustível alternativo aos derivados do petróleo) para a Região Nordeste (SATURNINO et al., 2005). A substituição do diesel por biodiesel promove a redução dos gases que corroboram com o efeito estufa (ACKON e ERTEL, 2005).

O pinhão manso habita áreas de solos pouco férteis e de clima desfavorável à maioria das espécies alimentares tradicionais, segundo trabalho realizado por Drumond et al. (2007). Também, por ser uma planta perene oferece vantagens em relação às culturas anuais para garantir a sustentabilidade da biomassa para produção de energia (FRITSCHÉ et al., 2009). Portanto, muito tem se apostado nesta cultura para o agronegócio do biodiesel (OLIVEIRA et al., 2012; LAVIOLA et al., 2013). No entanto, a espécie ainda se encontra em processo de domesticação e não existe cultivares consolidadas (LAVIOLA et al., 2014). Deste modo, o sucesso do cultivo ainda depende do desenvolvimento agrônomo para auxiliar na obtenção de altas taxas de produtividades nas diferentes regiões do Brasil (FREITAS et al., 2011; LAVIOLA et al., 2012; OLIVEIRA, 2013). Sendo assim, o estabelecimento de cultivares é importante para o pinhão manso se consolidar no futuro como fonte alternativa para a produção de biodiesel (DURÃES et al., 2011; LAVIOLA et al., 2013).

A espécie *Jatropha curcas* L. foi disseminada em várias partes do Brasil, desde a década de 80, através de cultivos isolados em alamedas e cercas, quintais e sítios. Porém, a partir do ano de 2005 vem sendo cultivada de maneira mais intensiva em áreas comerciais e experimentais com a finalidade de conhecimento referente à sua biologia e produção de óleo por meio de suas sementes (DURÃES; LAVIOLA, 2010). No entanto, o conhecimento sobre a cultura é insuficiente devido ao baixo número de pesquisas sobre a diversidade e divergência genética de pinhão manso no Brasil. Assim, faz-se necessário um estudo mais apurado de quanto uma constituição genética se difere da outra para seleção dos divergentes e com bom desempenho morfoagronômico, como também direcionar as novas hibridações visando gerar variabilidade, formação de clones e/ou híbridos da espécie.

Trabalhos de caracterização morfoagronômica são úteis para auxiliarem os programas de melhoramento genético vegetal, principalmente quando envolvendo caracteres qualitativos e quantitativos. Para tanto, os caracteres como diâmetro de copa, hábito de ramificação, número de ramos primários, inflorescência, razão entre flores masculinas e femininas, abundância de inflorescências, florescimento, frutos por racemo, peso e teor de óleo de sementes, tem sido recomendados como descritores para a caracterização e avaliação de genótipos de pinhão manso (SUNIL, et al., 2013). Além desses caracteres, a estatura de planta, diâmetro do caule, número de ramos primários e secundários, número de frutos, número de cacho de fruto, número de inflorescência, peso dos frutos e número de sementes são caracteres relevantes para o programa de melhoramento da espécie de pinhão manso.

A caracterização morfoagronômica de um Banco Ativo de Germoplasma, através do desempenho dos acessos envolvidos e sua divergência genética, tem a finalidade de fornecer informações importantes para identificação de indivíduos potenciais para o programa de melhoramento e para eliminar duplicatas entre acessos dentro de um Banco genético. Neste contexto, este trabalho teve como objetivo caracterizar, por meio do desempenho dos acessos e discriminá-los sob grupos, visando à seleção de constituições genéticas superiores e distintas para uso em programas de melhoramento genético da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) do Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO), situado na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, no Campus Universitário de Cruz das Almas, localizado a 12° 40' 19" latitude sul, 39° 06' 23" de longitude oeste de Greenwich e com altitude média de 226 m. O clima é do tipo como quente e úmido Am e Aw, com pluviosidade média anual de 1224 mm, com variações entre 900 e 1300 mm, sendo os meses de março a agosto os mais chuvosos e de setembro a fevereiro os mais secos. A temperatura média anual é de 24,1°C e umidade relativa do ar de 80%.

O BAG de *J. curcas* foi formado a partir de expedições de coleta durante os meses de janeiro, fevereiro e março de 2010 nos municípios da Chapada Diamantina, percorrendo toda a região ao redor do Parque Nacional e grande parte dos municípios da Chapada Norte. Estas regiões foram visitadas devido ao histórico de cultivo e utilização da espécie pela população local. Também, foram realizadas expedições na região Sudoeste do Estado, Vale do Jequiriçá e em alguns municípios do Recôncavo da Bahia. As coletas foram realizadas sem controle gamético com a finalidade de obter o maior número possível de sementes por planta (BRASILEIRO et al., 2012).

O BAG foi formado em delineamento em blocos ao acaso, com 46 acessos e 22 repetições, em parcelas lineares com 46 plantas, cada com bordadura simples e espaçamento de 3,0m x 2,0m, sendo que, 32 desses genótipos foram coletados e 14 introduzidos por meio de intercâmbio com a Universidade Federal de Viçosa – UFV, como podem ser observados na Tabela 1, adaptada de Brasileiro (2010). A Adubação foi realizada utilizando a dosagem de 120 a 150 g planta⁻¹ano⁻¹ de N, 40 a 60 g planta⁻¹ano⁻¹ de P e 80 a 120 de g planta⁻¹ano⁻¹ de K, no período chuvoso (mês de junho) seguindo as recomendações adotadas por Laviola (2009). Tratos culturais e controle fitossanitário foram desempenhados conforme a necessidade da cultura na região onde foram realizadas capinas periódicas e controle de formigas.

TABELA 1. Acessos de pinhão manso com a respectiva identificação, procedência e informações geográficas dos locais de coleta, estações experimentais e plantações no Estado da Bahia - Brasil. Cruz das Almas-BA, 2015.

| Genótipo | Procedência | Altitude | Latitude/longitude |
|-----------------|----------------------|-----------------|---------------------------|
| UFRB22 | Jequié | 233 | 13°52.388'S/40°03.810'W |
| UFRB23 | Jequié | 252 | 13°51.878'S/40°03.678'W |
| UFRB24 | Jequié | 236 | 13°51.794'S/40°03.857'W |
| UFRB27 | Terezinha | 179 | 13°59.708'S/39°46.343'W |
| UFRB28 | Ipiaú – Itaibo | 206 | 13°56.437'S/39°44.224'W |
| UFRB29 | Ipiaú – Itaibo | 202 | 13°56.502'S/39°44.255'W |
| UFRB30 | Ipiaú – Itaibo | 218 | 13°56.460'S/39°44.192'W |
| UFRB31 | Apaurema | 295 | 13°51.594'S/39°44.700'W |
| UFRB32 | Apaurema | 307 | 13°51.744'S/39°44.829'W |
| UFRB33 | Apaurema | 271 | 13°50.999'S/39°42.129'W |
| UFRB35 | Itaitê - Santa Clara | 317 | 12°56.188'S/41°03.765'W |
| UFRB36 | Itaitê - Santa Clara | 317 | 12°56.192'S/41°03.761'W |
| UFRB37 | Itaitê - Santa Clara | 317 | 12°56.194'S/41°03.759'W |
| UFRB38 | Itaitê - Santa Clara | 317 | 12°56.181'S/41°03.777'W |
| UFRB39 | Iraquara | 907 | 12°34.729'S/41°34.923'W |
| UFRB40 | Itaitê - Santa Clara | 318 | 12°56.183'S/41°03.790'W |
| UFRB41 | Andaraí – Igatu | 742 | 12°53.826'S/41°19.072'W |
| UFRB42 | Andaraí – Igatu | 766 | 12°53.834'S/41°19.222'W |
| UFRB43 | Andaraí – Igatu | 749 | 12°53.600'S/41°19.250'W |
| UFRB44 | Mucugê – Guiné | 983 | 12°46.364'S/41°32.216'W |
| UFRB45 | Mucugê – Guiné | 966 | 12°45.270'S/41°32.568'W |
| UFRB47 | Palmeiras | 673 | 12°30.946'S/41°34.627'W |
| UFRB50 | Faz. Pau-Ferro | 692 | 12°31.747'S/41°34.100'W |
| UFRB53 | Faz. Pau-Ferro | 691 | 12°31.749'S/41°34.096'W |
| UFRB54 | Iraquara | 713 | 12°20.570'S/41°35.644'W |
| UFRB55 | Souto Soares | 712 | 12°20.566'S/41°35.630'W |
| UFRB56 | Cafarnaum** | 841 | 12°01.086'S/41°40.138'W |
| UFRB58 | Wagner | 789 | 11°46.246'S/41°09.284'W |
| UFRB59 | Gambá | 256 | 12°17.121'S/41°08.346'W |
| UFRB60 | Gambá | 527 | 12°17.119'S/41°08.340'W |
| UFRB61 | C. do Sincorá | - | - |
| UFRB62 | santa Inês | 384 | 13°17.158'S/39°49.397'W |
| UFVJC 03 | Santa Citória-MG* | - | - |
| UFVJC 05 | João pinheiro-MG* | - | - |
| UFVJC 10 | João pinheiro-MG* | - | - |
| UFVJC 18 | Montalvânia-MG* | - | - |
| UFVJC 19 | Montalvânia-MG* | - | - |
| UFVJC 23 | Caratinga-MG* | - | - |
| UFVJC 40 | Formoso-TO* | - | - |
| UFVJC 41 | Jales-SP* | - | - |
| UFVJC 45 | B. dos Bugres-MT* | - | - |
| UFVJC 46 | B. dos Bugres-MT* | - | - |
| UFVJC 52 | Barbacena-MG* | - | - |
| UFVJC 65 | Desconhecido* | - | - |
| UFVJC 74 | Cambodia* | - | - |
| UFVJC 84 | Petrolina-PE* | - | - |

**Plantação Comercial, *Genótipo introduzido por meio de intercâmbio, - Plantas não amostradas.

A caracterização morfoagronômica do pinhão manso foi realizada em um total de 46 acessos. Foram realizadas três avaliações, com a aplicação de descritores morfoagronômicos em épocas distintas sendo a primeira em fevereiro/2013, aos 32 meses, a segunda em junho/2013 aos 36 meses e a terceira avaliação em dezembro/2013 quando as plantas atingiram 42 meses de idade. Os descritores morfoagronômicos aferidos foram: Estatura de planta (EST), onde foi considerada a distância entre a superfície do solo e a extremidade apical da última folha; Diâmetro do caule (DC), dimensionado no colo da planta o mais próximo do solo, com a utilização de paquímetro digital; e Número de ramificações primárias (NRP) e secundárias (NRS) por planta, obtido pela contagem direta do número de ramos inseridos no caule principal, Número de fruto por planta (NF), Número de cacho de fruto por plantas (NCF), Número de cacho de inflorescência por planta (NCFL), Número de sementes por planta (NS), Número Médio de sementes por fruto (NMSF), contagem direta; Peso dos frutos por planta (PF) Peso das sementes por planta (PS), utilizando balança semianalítica digital Marte (modelo AL 500C) e Produtividade de sementes por planta (PROD).

Para caracterização dos frutos, os mesmos foram cobertos com sacos de TNT (Figura 1A) quando maduros, para evitar perda de sementes por deiscência e a coleta dos frutos foi realizada manualmente, quando os mesmos estavam completamente secos (Figura 1B), e, em seguida, as sementes foram obtidas após beneficiamento, utilizando balança semianalítica Marte (modelo AL 500C). (Figura 1C). A produtividade dos 46 acessos foi calculada através da fórmula: $\text{Produtividade} = \text{Peso das sementes por planta (Kg)} \times \text{N}^{\circ}\text{Plantas ha}^{-1}$.



FIGURA 1. A) Frutos protegidos com sacos TNT, B) Frutos secos e C) Sementes de pinhão manso. Fotos: autor. Cruz das Almas, 2015.

Com base nos 12 caracteres avaliados, foi testada a normalidade entre os dados dos caracteres estudados, sendo que, os resultados foram significativos ($p < 0,01$), indicando que os dados não seguem distribuição normal. Após, foi procedida a análise da variância com teste F e a aplicação do teste de Scott & Knott para as comparações entre as médias estimadas, e, estimada a distância generalizada de Mahalanobis, com construção do dendrograma utilizando o método de agrupamento, método da média aritmética não ponderada – UPGMA, *Unweighted Pair-Group Method Averages*, (SNEATH e SOKAL, 1973) por meio do software do programa STATISTICA (STATISTICA, 2002). O número de grupos foi definido utilizando o pacote Nbclust (CHARRAD et al., 2013), a partir do critério pseudo- t^2 , por meio do programa estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2006). A correlação cofenética entre a matriz de distância e a matriz de agrupamento, foi calculada por meio do aplicativo genético estatístico Genes (CRUZ, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 estão apresentadas as estatísticas descritivas e análise de variância dos descritores quantitativos. Houve diferenças altamente significativas pelo teste F ($p \leq 0,05$) para todas as características relacionadas ao crescimento como: Número de ramificações primárias (NRP) e secundárias

(NRS), Estatura de planta (EST) e Diâmetro do caule (DC). Já os caracteres relacionados com a produção de grãos apresentaram diferenças significativas para os caracteres: Número de cacho de fruto por plantas (NCF), Número de cacho de inflorescência por planta (NCFL) Número Médio de Sementes (NMS) que apresentou diferença significativas a 1% de probabilidade (Tabela 2). A amplitude dos coeficientes de variação foi de 15,23 a 182,52 para os caracteres, diâmetro do caule e peso dos frutos, respectivamente. As maiores variações dentre os caracteres observados foram para estatura da planta (59,67 cm a 222,33 cm), com média de 157,86 cm de estatura da planta, seguida da produtividade de sementes por planta (PROD) apresentando valores entre (0 a 81.97 Kg/ha⁻¹), com média de 2,89kg/ha⁻¹. As menores variações ocorreram para os caracteres número médio de sementes por fruto (0 a 2,90) com média de 0,63 sementes por frutos, seguido do número de cacho de fruto por planta apresentando valores entre (0 e 8,67) cachos de fruto por planta.

Resultados similares foi observado por Laviola et al. (2010) estudando 175 acessos em seu primeiro ano de cultivo, observaram diferenças significativas para todas as características avaliadas, dentre estas, o número de ramificações primárias e diâmetro do caule e para produção de grãos. No entanto, de acordo com o mesmo autor, embora tenha encontrado diferença estatística entre os acessos para produção de grãos, os dados não permitem conclusões visando à seleção precoce de genótipos promissores para futuras hibridações, devido o coeficiente de variação apresentar valor de 72,3 %.

A produtividade apresentada pelos acessos de pinhão manso avaliados neste trabalho foi extremamente baixa quando comparados aos alcançados por DRUMOND et al. (2010) , estudando 10 genótipos de pinhão manso na região semiárida do Nordeste brasileiro, onde cada planta foi adubada com 150 g de NPK, observaram produtividade média de dez progênies de 3.294 kg ha⁻¹, aos 24 meses, com variação de 2.853 a 3.542 kg ha⁻¹. Porém, de acordo com EVANGELISTA et al. (2011) e OLIVEIRA et al.(2011) para se obter alto rendimento de sementes e óleo, a planta necessita de quantidade de água adequada e solos férteis e com boas condições físicas.

Evangelista et al. (2011) avaliando os efeitos da irrigação e aplicação do fertilizante Organo Minerais-Marinhos + Biotech® (OMM-Tech) na produtividade e rendimento do pinhão-manso em solo Argissolo Vermelho eutrófico, verificaram que houve diferenças significativas entre os tratamentos estudados, em nível de 5% de probabilidade, para as características de produção analisadas. Entretanto, somente houve efeito significativo da interação entre as diferentes formas de aplicação de OMM-tech e as lâminas de água aplicadas para a produtividade. Também, o mesmo autor relatou baixa produtividade entre as plantas de pinhão manso estudadas, sendo que o tratamento irrigado foi superior ao não irrigado, com obtenção de produtividade e rendimento de 236,2 kg ha⁻¹ e 9,01 L kg⁻¹ contra 83,87 kg ha⁻¹ e 9,97 L kg⁻¹ das plantas de sequeiro. Desta forma a irrigação e as formas de aplicação de OMM-tech produziram efeitos significativos sobre o rendimento e a produtividade de sementes de pinhão manso.

Tabela 2: Resumo da análise de variância de 46 acessos de pinhão manso avaliados aos (32, 36 e 42 meses) meses após o plantio. Cruz das Almas-BA, 2015.

| | | CARACTERES DE CRESCIMENTO | | | |
|---------|-----|---------------------------|----------|-----------|----------|
| | | Quadrado Médio | | | |
| FV | GL | NRP | NRS | EST | DC |
| Blocos | 21 | 1,95 | 338,42 | 2308,38 | 341,86 |
| TRAT | 45 | 1,92** | 175,30** | 1715,17** | 276,53** |
| Resíduo | 945 | 0,96 | 70,33 | 589,49 | 101,58 |
| Média | | 2,68 | 15,33 | 157,86 | 66,17 |
| CV(%) | | 36,53 | 54,71 | 15,38 | 15,23 |
| Mínimo | | 1,00 | 0,00 | 59,67 | 29,11 |
| Máximo | | 18,33 | 66,67 | 222,33 | 99,45 |

| | | CARACTERES DE PRODUÇÃO DE GRÃOS | | | | | | | |
|---------|-----|---------------------------------|---------|---------------------|---------------------|---------------------|--------|---------------------|---------------------|
| | | Quadrado Médio | | | | | | | |
| FV | GL | NCF | NCFL | NF | PF | OS | NMS | NS | PROD |
| Blocos | 21 | 2,81 | 14,80 | 6,19 | 30,49 | 16,90 | 1,03 | 44,58 | 46,96 |
| TRAT | 45 | 3,46** | 15,03** | 5,359 ^{ns} | 22,77 ^{ns} | 12,42 ^{ns} | 0,70** | 38,10 ^{ns} | 34,53 ^{ns} |
| Resíduo | 945 | 1,44 | 9,45 | 4,21 | 18,68 | 9,90 | 0,37 | 29,96 | 27,50 |
| Média | | 1,06 | 2,66 | 1,21 | 2,37 | 1,74 | 0,63 | 3,22 | 2,89 |
| CV(%) | | 113,54 | 115,66 | 169,05 | 182,52 | 181,22 | 96,93 | 169,77 | 181,23 |
| Mínimo | | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Máximo | | 8,67 | 40,00 | 25,67 | 68,38 | 49,17 | 2,90 | 68,67 | 81,97 |

(**) Efeito significativo a 0,01; (ns) não significativo a nível de 0,05 de probabilidade pelo teste F.

De acordo a Tabela 3, observou-se que houve diferenças significativas pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade, para todas as características relacionadas ao crescimento como: Número de ramificações primárias (NRP) e secundárias (NRS), Estatura de planta (EST) e Diâmetro do caule (DC). Já os caracteres relacionados com a produção de grãos apresentaram diferenças significativas entre os acessos estudados para os caracteres: Número de cacho de fruto por plantas (NCF), Número de cacho de inflorescência por planta (NCFL), Número Médio de Sementes (NMS). Indicando que os 46 acessos foram improdutivos no ambiente de estudo. Esta baixa produtividade pode ser devido o solo da região de cultivo do experimento ser um solo de Tabuleiro, apresentando como característica marcante a presença de horizontes subsuperficiais coesos, que dificultam a dinâmica da água no perfil e o seu armazenamento no solo, além de diminuir o volume de exploração do solo pelas raízes. Portanto, devido o pinhão manso possuir raízes curtas e pouco ramificada (ARRUDA et al., 2004), pode acarretar em uma redução na absorção de nutrientes e, principalmente, de água pelas plantas e proporcionando desta forma em plantas improdutivas. Também esta baixa produtividade pode está relacionada com a maturidade da planta.

Estudos realizados por Laviola et al., (2014) avaliando a produtividade e grãos no terceiro ano de produção em 18 famílias de meio-irmãos de pinhão manso em três diferentes municípios: Planaltina, DF; Nova Porteirinha, MG; e Pelotas, RS, observaram que as progênies interagiram significativamente com os ambientes avaliados, quanto à produtividade de grãos ($p < 0,01$), apresentando em média $1464,65 \text{ kg ha}^{-1}$.

Tabela3. Comparação de média entre 12 caracteres de 46 acessos de pinhão manso de 46 acessos de pinhão manso avaliados aos (32, 36 e 42 meses) meses após o plantio. Cruz das Almas-BA, 2015.

| Acessos | NCF (unid) | NCFL (unid) | NRP (unid) | NRS (unid) | EST (cm) | DC (cm) | NF (unid) | PF (g) | PS (g) | NMF (unid) | NS (unid) | PROD (Kg ha^{-1}) |
|---------|---------------|----------------|---------------|---------------|-------------|------------|--------------|-----------|-----------|---------------|--------------|-------------------------|
| ufrb22 | 1,21 b | 1,56 b | 2,00 b | 10,70 b | 144,11 b | 63,72 b | 1,29 a | 2,64 a | 1,91 a | 0,58 b | 3,50 a | 3,18 a |
| ufrb23 | 1,39 b | 2,68 b | 2,89 a | 18,14 a | 151,82 b | 62,95 b | 1,03 a | 1,95 a | 1,41 a | 0,61 b | 2,55 a | 2,36 a |
| ufrb24 | 1,27 b | 2,37 b | 3,07 a | 14,99 b | 153,06 b | 67,58 a | 1,68 a | 3,19 a | 2,39 a | 0,65 b | 4,59 a | 3,98 a |
| ufrb27 | 1,16 b | 3,07 a | 2,56 a | 14,86 b | 153,56 b | 68,02 a | 1,65 a | 3,58 a | 2,91 a | 0,75 a | 4,36 a | 4,85 a |
| ufrb28 | 0,55 c | 1,60 b | 2,72 a | 11,56 b | 147,39 b | 63,81 b | 0,97 a | 1,89 a | 1,40 a | 0,72 a | 2,59 a | 2,33 a |
| ufrb29 | 0,94 c | 1,62 b | 2,66 a | 15,50 b | 155,19 b | 64,83 b | 1,14 a | 2,37 a | 1,70 a | 0,78 a | 2,99 a | 2,84 a |
| ufrb30 | 0,91 c | 1,91 b | 3,08 a | 13,85 b | 147,11 b | 64,65 b | 0,88 a | 1,74 a | 1,31 a | 0,48 b | 2,46 a | 2,18 a |
| ufrb31 | 1,18 b | 2,65 b | 2,58 a | 15,49 b | 156,60 b | 66,97 a | 1,45 a | 2,59 a | 1,86 a | 0,69 a | 3,70 a | 3,10 a |
| ufrb32 | 1,30 b | 2,27 b | 2,81 a | 16,69 a | 154,24 b | 66,31 a | 1,87 a | 3,84 a | 2,82 a | 0,40 b | 4,76 a | 4,70 a |
| ufrb33 | 1,11 b | 2,23 b | 2,69 a | 15,30 b | 156,57 b | 68,16 a | 0,96 a | 1,92 a | 1,42 a | 0,54 b | 2,42 a | 2,37 a |
| ufrb35 | 0,36 c | 3,83 a | 2,62 a | 16,30 a | 155,13 b | 65,14 b | 0,93 a | 1,89 a | 1,37 a | 0,52 b | 2,44 a | 2,29 a |
| ufrb36 | 0,76 c | 3,59 a | 2,57 a | 16,22 a | 147,94 b | 65,53 b | 0,84 a | 1,64 a | 1,17 a | 0,48 b | 2,00 a | 1,96 a |
| ufrb37 | 0,99 c | 2,14 b | 2,42 b | 13,39 b | 152,35 b | 61,48 b | 0,95 a | 1,89 a | 1,35 a | 0,62 b | 2,38 a | 2,25 a |
| ufrb38 | 1,03 c | 3,74 a | 2,77 a | 17,52 a | 157,48 b | 64,52 b | 1,12 a | 1,96 a | 1,46 a | 0,59 b | 3,07 a | 2,44 a |
| ufrb39 | 1,26 b | 2,94 a | 3,09 a | 15,23 b | 159,35 a | 69,91 a | 2,14 a | 4,04 a | 3,00 a | 1,01 a | 5,80 a | 5,01 a |
| ufrb40 | 0,79 c | 2,36 b | 2,33 b | 12,91 b | 153,09 b | 63,03 b | 0,86 a | 1,64 a | 1,18 a | 0,59 b | 2,35 a | 1,96 a |
| ufrb41 | 0,76 c | 2,26 b | 2,26 b | 11,80 b | 161,06 a | 64,68 b | 1,51 a | 2,86 a | 2,12 a | 0,69 a | 4,04 a | 3,53 a |
| ufrb42 | 1,39 b | 3,22 a | 2,60 a | 15,52 b | 164,84 a | 67,89 a | 1,00 a | 1,95 a | 1,42 a | 0,80 a | 2,81 a | 2,37 a |
| ufrb43 | 2,00 a | 4,47 a | 2,59 a | 17,67 a | 163,79 a | 67,59 a | 2,09 a | 4,28 a | 3,05 a | 1,08 a | 5,71 a | 5,08 a |
| ufrb44 | 0,31 c | 0,83 b | 2,54 a | 10,00 b | 132,91 b | 61,50 b | 0,19 a | 0,29 a | 0,19 a | 0,26 b | 0,46 a | 0,32 a |
| ufrb45 | 1,39 b | 2,61 b | 2,48 b | 15,60 b | 165,03 a | 66,72 a | 1,99 a | 4,00 a | 2,83 a | 0,83 a | 5,24 a | 4,71 a |
| ufrb47 | 1,14 b | 2,14 b | 2,67 a | 15,44 b | 153,27 b | 64,99 b | 1,14 a | 2,16 a | 1,54 a | 0,52 b | 2,80 a | 2,57 a |
| ufrb50 | 1,19 b | 2,80 a | 2,71 a | 16,38 a | 161,19 a | 65,39 b | 0,90 a | 1,75 a | 1,28 a | 0,55 b | 2,32 a | 2,12 a |
| ufrb53 | 1,26 b | 3,16 a | 2,68 a | 18,95 a | 162,38 a | 66,91 a | 1,45 a | 2,61 a | 1,91 a | 0,65 b | 3,92 a | 3,18 a |
| ufrb54 | 0,64 c | 1,41 b | 1,80 b | 9,02 b | 146,82 b | 56,22 b | 0,42 a | 0,78 a | 0,56 a | 0,41 b | 1,12 a | 0,93 a |
| ufrb55 | 0,48 c | 1,27 b | 2,30 b | 9,82 b | 156,59 b | 61,02 b | 0,74 a | 1,33 a | 0,95 a | 0,48 b | 1,94 a | 1,59 a |
| ufrb56 | 0,89 c | 3,65 a | 3,03 a | 19,23 a | 174,76 a | 73,38 a | 0,50 a | 0,93 a | 0,69 a | 0,40 b | 1,53 a | 1,16 a |
| ufrb58 | 0,59 c | 1,96 b | 2,85 a | 14,05 b | 154,35 b | 63,29 b | 0,49 a | 0,95 a | 0,72 a | 0,38 b | 1,23 a | 1,19 a |
| ufrb59 | 1,02 c | 2,01 b | 2,58 a | 15,53 b | 156,22 b | 65,46 b | 2,14 a | 5,06 a | 3,67 a | 0,52 b | 5,81 a | 6,11 a |
| ufrb60 | 1,12 b | 3,24 a | 2,76 a | 17,73 a | 166,41 a | 69,63 a | 1,02 a | 1,92 a | 1,41 a | 0,68 a | 2,67 a | 2,35 a |
| ufrb61 | 1,22 b | 2,01 b | 1,90 b | 12,31 b | 155,63 b | 61,20 b | 1,41 a | 2,57 a | 1,91 a | 1,05 a | 3,80 a | 3,18 a |
| ufrb62 | 1,25 b | 3,73 a | 2,66 a | 14,75 b | 144,37 b | 61,06 b | 1,72 a | 3,06 a | 2,20 a | 0,80 a | 4,37 a | 3,67 a |

Tabela 3. Continuação...

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------|--------|---|--------|---|-------|---|-------|---|--------|---|-------|---|--------|---|--------|---|--------|---|-------|---|--------|---|--------|---|
| ufvjc03 | 0,93 | c | 2,94 | a | 3,00 | a | 19,18 | a | 164,21 | a | 73,18 | a | 2,25 | a | 4,22 | a | 3,13 | a | 0,75 | a | 6,02 | a | 5,22 | a |
| ufvjc05 | 0,85 | c | 2,29 | b | 2,66 | a | 13,76 | b | 159,23 | a | 67,45 | a | 0,89 | a | 1,70 | a | 1,26 | a | 0,56 | b | 2,43 | a | 2,11 | a |
| ufvjc10 | 1,57 | b | 1,99 | b | 2,98 | a | 16,39 | a | 167,76 | a | 68,90 | a | 0,91 | a | 1,68 | a | 1,29 | a | 0,62 | b | 2,56 | a | 2,15 | a |
| ufvjc18 | 0,79 | c | 3,95 | a | 2,97 | a | 18,82 | a | 167,33 | a | 65,67 | b | 1,62 | a | 2,76 | a | 1,88 | a | 0,48 | b | 4,02 | a | 3,14 | a |
| ufvjc19 | 2,25 | a | 4,53 | a | 2,99 | a | 23,21 | a | 157,05 | b | 69,64 | a | 1,40 | a | 3,03 | a | 2,26 | a | 0,87 | a | 3,88 | a | 3,77 | a |
| ufvjc23 | 0,56 | c | 3,36 | a | 2,82 | a | 16,81 | a | 149,84 | b | 66,44 | a | 0,70 | a | 1,44 | a | 1,04 | a | 0,39 | b | 1,84 | a | 1,74 | a |
| ufvjc40 | 0,98 | c | 2,38 | b | 2,89 | a | 14,08 | b | 172,89 | a | 67,32 | a | 1,00 | a | 1,93 | a | 1,40 | a | 0,63 | b | 2,74 | a | 2,33 | a |
| ufvjc41 | 1,31 | b | 2,48 | b | 2,93 | a | 14,56 | b | 167,55 | a | 72,01 | a | 1,67 | a | 3,31 | a | 2,53 | a | 0,54 | b | 4,38 | a | 4,21 | a |
| ufvjc45 | 0,98 | c | 3,53 | a | 3,03 | a | 20,98 | a | 177,24 | a | 74,44 | a | 0,96 | a | 1,98 | a | 1,48 | a | 0,75 | a | 2,73 | a | 2,46 | a |
| ufvjc46 | 0,89 | c | 2,88 | a | 2,82 | a | 14,92 | b | 165,15 | a | 66,82 | a | 1,25 | a | 2,39 | a | 1,75 | a | 0,69 | a | 3,32 | a | 2,91 | a |
| ufvjc52 | 0,93 | c | 2,93 | a | 2,74 | a | 16,08 | a | 162,07 | a | 67,76 | a | 0,90 | a | 1,76 | a | 1,27 | a | 0,57 | b | 2,43 | a | 2,12 | a |
| ufvjc65 | 0,56 | c | 2,80 | a | 2,86 | a | 14,53 | b | 151,24 | b | 63,58 | b | 0,77 | a | 1,52 | a | 1,10 | a | 0,46 | b | 2,14 | a | 1,84 | a |
| ufvjc74 | 1,30 | b | 2,53 | b | 2,76 | a | 15,06 | b | 171,41 | a | 69,87 | a | 1,30 | a | 2,40 | a | 1,79 | a | 0,70 | a | 3,33 | a | 2,98 | a |
| ufvjc84 | 1,89 | a | 2,34 | b | 2,45 | b | 14,30 | b | 164,03 | a | 67,12 | a | 1,81 | a | 3,54 | a | 2,57 | a | 0,86 | a | 4,76 | a | 4,29 | a |
| Média | 1,06 | | 2,66 | | 2,68 | | 15,33 | | 157,36 | | 66,17 | | 1,21 | | 2,37 | | 1,74 | | 0,63 | | 3,22 | | 2,89 | |
| CV | 113,54 | | 115,66 | | 36,53 | | 54,71 | | 15,38 | | 15,23 | | 169,05 | | 182,52 | | 181,22 | | 96,93 | | 169,77 | | 181,23 | |

Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, constituem grupo estatisticamente homogêneo, pelo teste de Scott & Knott, a 5% de probabilidade.

A distância genética, (Tabela 4), variou entre 0,11 e 6,98 entre os acessos, com média de 1,97. Os acessos mais similares geneticamente foram UFRB60 e UFVJC52 (valor mínimo de 0,11) e os mais distantes geneticamente foram UFRB27 e UFVJC18 (valor máximo de 6,96), seguindo dos cruzamentos UFJC19 e UFRB55, contribuindo com 6,30 de dissimilaridade, os cruzamentos UFRB22 e UFVJC18 com 6,02, UFRB41 e UFVJC19 com 6,01. Deste modo, estes últimos, são promissores para futuras hibridações dentro de um programa de melhoramento genético do pinhão manso.

Os acessos mais similares UFRB60 e UFVJC52 apresentaram valores médios a partir das três avaliações NCF(1,12; 0,93), NCFL(3,24; 2,93), NRP(2,76; 2,74), NRS(17,73; 16,08), EST(166,41; 162,07), DC(69,63;67,76), NF(1,02; 0,90), PF(1,92; 1,76), PS(1,41; 1,27), NMF(0,68; 0,57), NS(2,67; 2,43), PROD(2,35; 2,12) respectivamente. Já, os acessos mais distantes geneticamente UFRB27 e UFVJC18 apresentaram valores médios NCF (1,16; 0,79), NCFL (3,07; 3,95), NRP (2,56; 2,97), NRS (14,86; 18,82), EST(153,56; 167,33), DC(68,02; 65,67), NF(1,65; 1,62), PF(3,58; 2,76), PS(2,91; 1,88), NMF(0,75; 0,48), NS(4,36; 4,02), PROD(4,85; 3,14) respectivamente.

Trabalhos realizados por Freitas (2010) sobre a caracterização de 78 acessos de pinhão manso por meio de 9 descritores morfoagronômicos, apresentaram matriz de dissimilaridade, obtida pelo método Tocher e hierárquico UPGMA, com valor mínimo de 1,18 e valor máximo de 83,94.

Portanto os acessos divergentes poderão ser usados para aumentar a base genética nas populações de melhoramento e contribuir para maximizar o ganho genético numa população melhorada.

Tabela 4. Matriz de dissimilaridade genética de 46 acessos do BAG de pinhão manso obtida a partir do coeficiente de dissimilaridade de Mahalanobis.

| Genóti pos | ufrb 23 | ufrb 24 | ufrb 27 | ufrb 28 | ufrb 29 | ufrb 30 | ufrb 31 | ufrb 32 | ufrb 33 | ufrb 35 | ufrb 36 | ufrb 37 | ufrb 38 | ufrb 39 | ufrb 40 | ufrb 41 | ufrb 42 | ufrb 43 | ufrb 44 | ufrb 45 | ufrb 47 | ufrb 50 | ufrb 53 | ufrb 54 | ufrb 55 | ufrb 56 | ufrb 58 | ufrb 59 | ufrb 60 | ufrb 61 | ufrb 62 | ufvjc 03 | ufvjc 05 | ufvjc 10 | ufvjc 18 | ufvjc 19 | ufvjc 23 | ufvjc 40 | ufvjc 41 | ufvjc 45 | ufvjc 46 | ufvjc 52 | ufvjc 65 | ufvjc 74 | ufvjc 84 |
|---------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| ufrb22 | 3,65 | 1,67 | 2,74 | 1,60 | 2,25 | 2,01 | 1,27 | 2,20 | 1,18 | 3,13 | 2,19 | 1,96 | 3,14 | 2,13 | 1,25 | 1,79 | 1,78 | 2,59 | 1,60 | 1,92 | 1,67 | 2,44 | 2,68 | 2,20 | 2,37 | 4,21 | 2,87 | 2,40 | 2,17 | 2,64 | 2,76 | 3,21 | 1,29 | 2,85 | 6,02 | 4,30 | 2,73 | 3,69 | 2,27 | 4,13 | 2,55 | 1,93 | 2,59 | 2,34 | 1,47 |
| ufrb23 | | 2,10 | 4,46 | 2,19 | 1,03 | 1,48 | 1,47 | 1,43 | 1,66 | 1,99 | 1,76 | 0,82 | 0,94 | 3,08 | 1,57 | 3,24 | 2,05 | 2,47 | 3,14 | 1,93 | 0,73 | 0,63 | 0,95 | 2,45 | 2,61 | 3,57 | 0,97 | 2,72 | 1,42 | 3,25 | 1,24 | 3,78 | 2,20 | 1,97 | 2,10 | 1,98 | 1,92 | 2,70 | 4,11 | 2,92 | 1,73 | 1,46 | 1,28 | 2,51 | 2,49 |
| ufrb24 | | | 2,14 | 0,93 | 1,54 | 0,34 | 0,87 | 1,02 | 0,74 | 2,03 | 1,89 | 1,81 | 1,37 | 0,55 | 1,26 | 1,74 | 1,44 | 2,65 | 1,63 | 1,83 | 1,04 | 1,39 | 1,21 | 3,22 | 2,19 | 2,24 | 1,28 | 1,93 | 1,13 | 3,56 | 2,01 | 1,17 | 0,63 | 1,23 | 3,59 | 3,08 | 1,53 | 2,14 | 1,10 | 2,16 | 1,20 | 0,95 | 1,05 | 1,44 | 1,79 |
| ufrb27 | | | | 2,49 | 3,69 | 2,90 | 2,41 | 2,56 | 2,05 | 3,60 | 3,06 | 3,48 | 3,68 | 2,24 | 3,14 | 2,72 | 3,51 | 5,18 | 3,53 | 4,18 | 2,91 | 3,48 | 3,63 | 4,57 | 4,09 | 5,12 | 3,43 | 4,10 | 2,89 | 4,25 | 3,65 | 2,80 | 2,37 | 3,77 | 6,96 | 5,26 | 3,51 | 4,89 | 1,74 | 4,50 | 3,26 | 3,15 | 3,67 | 2,69 | 3,32 |
| ufrb28 | | | | | 0,71 | 0,80 | 0,72 | 1,72 | 0,85 | 1,27 | 1,40 | 1,02 | 1,73 | 0,79 | 0,68 | 1,15 | 1,59 | 2,87 | 1,11 | 1,49 | 0,93 | 1,47 | 1,73 | 2,16 | 1,25 | 3,23 | 0,99 | 2,04 | 1,16 | 2,34 | 1,56 | 1,72 | 0,64 | 2,33 | 3,35 | 4,51 | 1,44 | 2,13 | 2,15 | 2,42 | 0,91 | 0,94 | 0,86 | 1,59 | 2,14 |
| ufrb29 | | | | | | 1,20 | 0,79 | 1,44 | 0,95 | 1,43 | 1,69 | 0,49 | 1,38 | 1,63 | 0,68 | 1,55 | 1,31 | 2,12 | 2,21 | 0,73 | 0,56 | 0,73 | 0,97 | 1,89 | 1,27 | 2,97 | 0,77 | 1,42 | 0,81 | 1,95 | 1,72 | 2,25 | 1,02 | 1,71 | 2,42 | 3,30 | 1,72 | 1,65 | 2,95 | 1,76 | 0,79 | 0,77 | 0,98 | 1,49 | 1,68 |
| ufrb30 | | | | | | | 1,13 | 1,08 | 0,74 | 1,55 | 1,42 | 1,47 | 1,16 | 1,26 | 1,10 | 2,27 | 1,58 | 2,90 | 1,03 | 2,11 | 0,83 | 1,12 | 1,27 | 2,89 | 2,11 | 2,10 | 0,70 | 1,76 | 1,14 | 4,01 | 1,93 | 1,87 | 0,73 | 1,41 | 3,28 | 2,77 | 0,92 | 2,21 | 1,94 | 2,13 | 1,26 | 0,79 | 0,50 | 1,97 | 2,44 |
| ufrb31 | | | | | | | | 0,92 | 0,36 | 1,21 | 0,92 | 0,68 | 1,13 | 0,99 | 0,50 | 0,95 | 1,04 | 2,00 | 1,70 | 0,80 | 0,29 | 0,71 | 0,80 | 1,88 | 1,28 | 2,48 | 1,00 | 2,10 | 0,47 | 2,01 | 1,10 | 1,42 | 0,51 | 1,66 | 2,27 | 3,37 | 1,31 | 1,84 | 1,54 | 1,96 | 0,70 | 0,54 | 1,04 | 0,78 | 1,14 |
| ufrb32 | | | | | | | | | 0,70 | 1,94 | 1,50 | 1,40 | 1,75 | 2,14 | 1,62 | 2,19 | 2,46 | 3,58 | 2,00 | 1,73 | 0,47 | 1,09 | 1,32 | 2,94 | 2,22 | 2,94 | 1,03 | 1,23 | 1,36 | 4,20 | 2,16 | 1,77 | 1,32 | 1,97 | 2,60 | 3,57 | 1,51 | 2,64 | 1,53 | 2,78 | 1,59 | 1,25 | 1,42 | 1,65 | 2,15 |
| ufrb33 | | | | | | | | | | 1,41 | 0,87 | 1,06 | 1,52 | 1,32 | 0,79 | 1,52 | 1,12 | 2,54 | 1,22 | 1,33 | 0,34 | 0,78 | 1,16 | 2,44 | 1,73 | 1,83 | 0,87 | 1,67 | 0,47 | 3,14 | 2,06 | 1,51 | 0,35 | 1,34 | 3,18 | 2,92 | 0,97 | 2,00 | 1,07 | 1,61 | 1,01 | 0,46 | 1,04 | 0,91 | 1,45 |
| ufrb35 | | | | | | | | | | | 0,65 | 1,38 | 0,89 | 2,25 | 0,92 | 1,89 | 1,96 | 3,11 | 2,08 | 2,04 | 1,24 | 1,24 | 1,25 | 2,57 | 1,94 | 2,05 | 0,90 | 2,29 | 0,93 | 3,72 | 1,70 | 1,98 | 1,17 | 3,21 | 1,62 | 4,06 | 0,49 | 2,47 | 3,26 | 1,70 | 1,04 | 0,73 | 0,45 | 2,36 | 3,62 |
| ufrb36 | | | | | | | | | | | | 1,50 | 1,54 | 2,49 | 1,25 | 2,73 | 2,25 | 3,18 | 1,19 | 2,50 | 0,86 | 1,47 | 1,76 | 3,05 | 2,88 | 2,81 | 1,37 | 2,75 | 1,18 | 4,23 | 1,41 | 2,37 | 1,40 | 3,49 | 2,85 | 3,11 | 0,33 | 3,77 | 3,11 | 2,61 | 1,91 | 1,09 | 0,99 | 2,67 | 3,38 |
| ufrb37 | | | | | | | | | | | | | 1,03 | 2,13 | 0,38 | 1,16 | 1,10 | 1,77 | 2,41 | 0,68 | 0,43 | 0,39 | 0,97 | 0,72 | 0,75 | 3,37 | 0,67 | 1,91 | 0,91 | 1,37 | 0,98 | 3,27 | 1,09 | 1,77 | 2,06 | 3,48 | 1,95 | 1,48 | 2,92 | 2,67 | 0,71 | 0,83 | 0,99 | 1,27 | 1,22 |
| ufrb38 | | | | | | | | | | | | | | 1,97 | 0,80 | 1,83 | 1,10 | 1,94 | 2,97 | 1,62 | 1,07 | 0,52 | 0,28 | 1,98 | 1,77 | 1,84 | 0,76 | 2,58 | 0,74 | 2,75 | 1,22 | 2,45 | 1,15 | 1,52 | 1,48 | 2,47 | 1,29 | 1,64 | 3,02 | 1,71 | 0,79 | 0,64 | 0,50 | 1,81 | 2,34 |
| ufrb39 | | | | | | | | | | | | | | | 1,48 | 1,38 | 1,50 | 2,43 | 2,64 | 1,67 | 1,72 | 2,06 | 1,76 | 3,72 | 2,29 | 3,04 | 2,07 | 2,71 | 1,31 | 2,79 | 2,09 | 1,09 | 0,90 | 1,98 | 3,94 | 4,21 | 2,38 | 2,19 | 1,47 | 2,22 | 1,12 | 1,33 | 1,69 | 1,36 | 1,83 |
| ufrb40 | | | | | | | | | | | | | | | | 0,67 | 0,59 | 1,55 | 1,78 | 0,67 | 0,64 | 0,55 | 0,76 | 0,81 | 0,62 | 2,25 | 0,74 | 1,73 | 0,57 | 1,47 | 1,29 | 2,37 | 0,42 | 1,56 | 2,35 | 3,48 | 1,38 | 1,27 | 2,30 | 1,91 | 0,48 | 0,38 | 0,61 | 1,12 | 1,25 |
| ufrb41 | | | | | | | | | | | | | | | | | 1,28 | 2,62 | 3,19 | 0,86 | 1,56 | 1,46 | 1,56 | 1,24 | 0,43 | 3,15 | 1,61 | 2,29 | 1,24 | 1,32 | 2,35 | 2,22 | 0,76 | 2,07 | 2,94 | 6,00 | 2,96 | 1,15 | 1,66 | 2,61 | 0,62 | 1,15 | 1,77 | 0,75 | 1,26 |
| ufrb42 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 0,74 | 3,25 | 0,84 | 1,36 | 0,72 | 0,93 | 1,83 | 1,52 | 1,70 | 1,54 | 2,46 | 0,53 | 1,79 | 2,19 | 2,95 | 0,64 | 0,81 | 3,34 | 2,48 | 2,28 | 1,03 | 2,18 | 1,41 | 0,72 | 0,54 | 1,36 | 0,93 | 0,79 |
| ufrb43 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 4,98 | 1,17 | 2,35 | 1,69 | 1,80 | 2,78 | 3,06 | 3,72 | 3,15 | 3,14 | 1,75 | 2,09 | 2,10 | 4,61 | 2,23 | 2,25 | 4,20 | 2,16 | 3,59 | 2,49 | 4,22 | 3,01 | 1,92 | 1,81 | 2,54 | 2,47 | 1,23 |
| ufrb44 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 3,56 | 1,52 | 2,71 | 3,06 | 3,46 | 3,02 | 3,86 | 1,86 | 2,90 | 2,46 | 5,16 | 2,80 | 2,75 | 1,57 | 3,83 | 5,11 | 4,93 | 1,12 | 4,57 | 3,15 | 4,02 | 2,88 | 1,95 | 1,53 | 3,56 | 4,06 |
| ufrb45 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 0,97 | 0,82 | 1,02 | 1,55 | 0,95 | 2,95 | 1,53 | 1,45 | 0,90 | 1,44 | 1,99 | 2,63 | 1,06 | 1,57 | 2,28 | 3,97 | 2,77 | 1,02 | 2,44 | 2,08 | 0,63 | 0,88 | 1,66 | 0,90 | 0,67 |
| ufrb47 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 0,40 | 0,79 | 1,77 | 1,35 | 2,53 | 0,52 | 1,60 | 0,61 | 2,64 | 1,22 | 2,01 | 0,76 | 1,52 | 2,01 | 2,93 | 1,10 | 1,87 | 1,94 | 2,12 | 0,87 | 0,57 | 0,81 | 1,12 | 1,45 | |
| ufrb50 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 0,41 | 1,43 | 1,11 | 1,78 | 0,40 | 1,83 | 0,37 | 2,33 | 1,52 | 2,69 | 0,78 | 0,86 | 1,59 | 2,53 | 1,50 | 0,95 | 2,22 | 1,51 | 0,48 | 0,35 | 0,71 | 0,88 | 1,26 | |
| ufrb53 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2,05 | 1,63 | 1,64 | 0,87 | 2,02 | 0,48 | 2,41 | 1,67 | 1,84 | 0,95 | 1,04 | 1,56 | 2,39 | 1,53 | 1,41 | 2,51 | 1,24 | 0,71 | 0,51 | 0,83 | 1,32 | 1,69 | |
| ufrb54 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 0,68 | 4,69 | 1,75 | 3,02 | 2,25 | 1,23 | 2,16 | 5,21 | 1,95 | 2,79 | 3,47 | 5,61 | 3,59 | 2,12 | 4,09 | 4,46 | 1,68 | 1,96 | 2,10 | 2,24 | 1,83 | |
| ufrb55 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 3,25 | 1,00 | 2,25 | 1,43 | 1,65 | 2,44 | 3,25 | 1,00 | 1,97 | 2,35 | 6,30 | 2,97 | 0,81 | 2,47 | 2,91 | 0,61 | 1,16 | 1,45 | 1,04 | 1,62 | |
| ufrb56 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1,92 | 3,17 | 1,07 | 6,01 | 4,96 | 2,38 | 1,29 | 1,64 | 3,23 | 3,85 | 1,79 | 1,87 | 2,40 | 0,56 | 1,71 | 0,94 | 1,69 | 2,12 | 3,70 | |
| ufrb58 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1,74 | 0,73 | 3,25 | 1,83 | 2,32 | 0,77 | 1,42 | 1,57 | 3,76 | 1,06 | 1,22 | 2,26 | 1,74 | 0,57 | 0,50 | 0,33 | 1,34 | 2,39 | |
| ufrb59 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2,01 | 4,24 | 3,64 | 2,60 | 1,69 | 2,58 | 3,67 | 4,33 | 2,28 | 2,48 | 2,74 | 2,65 | 1,84 | 1,57 | 1,72 | 2,61 | 2,60 |
| ufrb60 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2,53 | 1,93 | 1,56 | 0,36 | 0,99 | 1,99 | 2,66 | 1,12 | 1,08 | 1,62 | 0,64 | 0,39 | 0,11 | 0,78 | 0,64 | 1,42 |
| ufrb61 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2,30 | 4,94 | 2,57 | 3,14 | 4,79 | 5,58 | 5,14 | 2,73 | 4,55 | 4,55 | 2,05 | 2,74 | 3,47 | 2,24 | 1,37 |
| ufrb62 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 3,60 | 2,22 | 3,44 | 2,55 | 3,42 | 2,15 | 3,45 | 4,12 | 4,27 | 1,79 | 1,91 | 1,49 | 2,73 | 2,47 |
| ufvjc03 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1,37 | 2,95 | 3,46 | 5,24 | 1,84 | 3,23 | 1,65 | 1,72 | 1,85 | 1,61 | 2,03 | 2,13 | 3,62 |
| ufvjc05 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1,03 | 2,86 | 3,64 | 1,20 | 1,10 | 0,99 | 1,19 | 0,45 | 0,21 | 0,72 | 0,64 | 1,35 |
| ufvjc10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 3,64 | 2,85 | 3,05 | 0,93 | 1,67 | 1,60 | 1,15 | 1,01 | 1,87 | 0,91 | |

O dendrograma possibilitou a separação dos 46 acessos de pinhão manso em dois grupos distintos (Figura 2), sendo que 96% dos acessos ficaram agrupados no grupo 1, formado por 44 acessos, sugerindo que há baixa dissimilaridade genética entre eles para caracteres morfoagronômicos. O grupo 2 com apenas 2 acessos.

Os Genótipos foram agrupados com a seguinte distribuição: Grupo 1: UFRB22, UFRB23, UFRB24, UFRB27, UFRB28, UFRB29, UFRB30, UFRB31, UFRB32, UFRB33, UFRB35, UFRB36, UFRB37, UFRB38, UFRB39, UFRB40, UFRB41, UFRB42, UFRB44, UFRB45, UFRB47, UFRB50, UFRB53, UFRB54, UFRB55, UFRB56, FRB58, UFRB59, UFRB60, UFRB61, UFRB62, UFVJC03, UFVJC05, UFVJC10, UFVJC18, UFVJC23, UFVJC40, UFVJC41, UFVJC45, UFVJC46, UFVJC52, UFVJC65, UFVJC74, UFVJC84 e Grupo 2: UFRB43 e UFVJC19. Estes dois acessos do grupo 2 são importantes para hibridações com os demais acessos do grupo 1.

O potencial agrônômico dos genótipos UFRB43 e UFVJC19 foram respectivamente: estatura da planta de 164 e 157 cm, diâmetro do caule de 68 e 70 mm, ambos possui três ramos primários, e 18 e 23 ramos secundários. Portanto, a formação de um grupo principal contendo a maior parte dos acessos, e somente dois acessos no segundo grupo, reforça a idéia de que o pinhão manso possui base genética estreita, causada provavelmente por uma ancestralidade comum, ou mesmo uma ausência de direcionamentos de hibridações em programas de melhoramento para o aumento de sua base genética, requerendo atenção dos melhoristas para este quesito.

Resultados semelhantes foram encontrados por Abreu et al. (2009) estudando a variabilidade genética de 10 acessos de pinhão manso na fase juvenil, em diferentes regiões do Brasil, obtendo-se a separação dos acessos em dois grupos distintos.

Número reduzido de grupos foi também encontrado por Freitas (2010), estudando a caracterização de pinhão manso por meio de descritores morfoagronômicos, possibilitando a separação dos 78 acessos em três grupos. O grupo 1 formado com 76 acessos e os outros grupos com apenas um único acesso. No entanto, o mesmo trabalho, utilizando o método de agrupamento

UPGMA, obteve-se a formação de oito grupos, sendo o grupo 1 contendo a maioria dos acessos (62).

Portanto, a baixa divergência genética encontrada na espécie *Jatropha curcas*, provavelmente, deve-se ao fato, da ocorrência de parentescos entre os acessos encontrados nas diferentes regiões do Brasil (ROSADO et al., 2010), ou mesmo uma incipiente atuação de programas de melhoramento da espécie em direcionamentos de hibridações para o aumento de sua variabilidade genética.

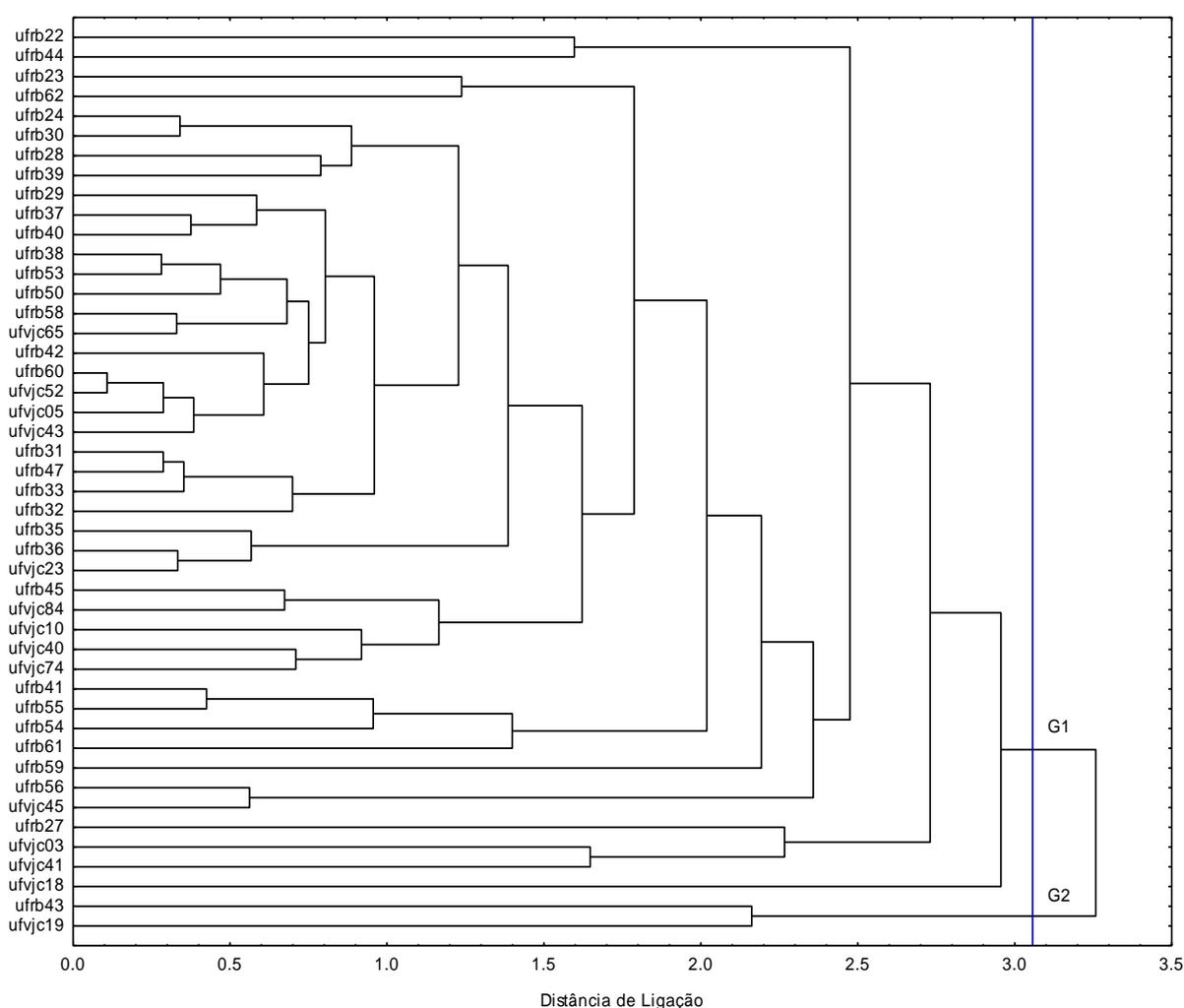


FIGURA 2. Dissimilaridade genética entre 46 acessos do BAG de pinhão manso obtido pelo método da média aritmética não ponderada (UPGMA), a partir do coeficiente de dissimilaridade de Mahalanobis.

No entanto, estudos realizados por Brasileiro (2010) e Brasileiro et al., (2013) com 20 acessos de meio irmãos de pinhão manso no seu 3^o ano de

cultivo, por meio de diferentes estratégias de agrupamento obteve o número ótimo de grupos igual a quatro de acordo com a abordagem Ward-MLM e com a utilização das análises de Tocher e UPGMA a partir da matriz de distância de Mahalanobis formaram seis grupos, enquanto que na técnica de componentes principais foi possível visualizar a formação de quatro grupos, coincidindo com a estratégia Ward-MLM. Também, Carvalho (2010), estudando 20 acessos de meio irmãos de pinhão manso, entre o 1 e 2º ano de cultivo, observou-se a formação de 5 grupos diferentes pelo resultado do agrupamento hierárquico utilizando o método do UPGMA a partir da matriz contendo os valores da distância. Do mesmo modo, Oliveira (2013), trabalhando com os mesmos acessos estudados no presente trabalho, obteve resultado similar, através de estudo de 46 acessos de pinhão manso embora quando as plantas atingiram o seu 1º e 2º ano de cultivo, houve a formação de cinco grupos distintos, utilizando a metodologia do ponto de corte definido por MINGOTTI e pelo método de UPGMA. Esses resultados foram diferentes do presente trabalho, possivelmente, devido à utilização de metodologias diferenciadas para avaliação dos dados, tanto para análise de agrupamento, quanto para o método de definição de números de grupos.

O coeficiente de correlação cofenético (TABELA 5) foi altamente significativo apresentando valor CCC = 0,69** para os caracteres quantitativos.

TABELA 5. Coeficiente de correlação cofenética (CCC) em acessos de pinhão manso. Cruz das Almas-BA, 2015.

| Estatística | Valor |
|-----------------------------|--------------|
| Correlação cofenética (CCC) | 0,69 |
| Graus de liberdade | 1033 |
| Valor de t | 30,70 |
| Probabilidade | 0,00** |
| Distorção(%) | 12,53 |
| Estresse(%) | 35,40 |

**significância foi verificada através do teste t em nível de 5% de probabilidade

Também, realizando estudo de divergência genética a partir da caracterização fenotípica de 20 acessos de pinhão manso meio-irmão, Carvalho (2010) obteve o coeficiente de correlação cofenética igual a 0,64. Já

trabalhos realizados com 46 acessos de pinhão manso obtiveram CCC=0,76 (OLIVEIRA, 2013). Do mesmo modo, trabalhos realizados por Laviola et al., (2010) sobre caracterização morfoagronômica de 175 procedências no banco de germoplasma de pinhão manso com base na avaliação fenotípica, realizada no primeiro ano de implantação, obteve coeficiente de 72,3%. No entanto, de acordo com Bussab et al. (1990), o coeficiente de correlação cofenético mais adequado é a partir de 0,80.

Dentre os 11 caracteres morfoagronômicos avaliados, o peso das sementes foi o que mais contribuiu para a divergência genética entre os 46 acessos de pinhão manso com 19,84% (TABELA 6), seguidos do peso dos frutos (12,79%) e estatura da planta (12,59%), sendo estes caracteres que apresentaram maior variação presentes nos dados. O caráter que menos contribuiu para a variabilidade foi o número de sementes, com 1,97%.

Tabela 6. Contribuição relativa dos caracteres obtida dos acessos do BAG de pinhão manso para divergência – SINGH (1981). Cruz das Almas-BA, 2015.

| CARACTERES | VALOR (%) |
|------------------------------------|-----------|
| Número de Cacho de Fruto | 9,71 |
| Número de Inflorescência | 4,25 |
| Número de Ramificações Primárias | 5,75 |
| Número de Ramificações Secundárias | 8,87 |
| Estatura da planta (cm) | 12,59 |
| Diâmetro do Caule | 10,41 |
| Número de Frutos | 8,04 |
| Peso dos Frutos (g) | 12,79 |
| Peso das sementes(g) | 19,84 |
| Número médio de sementes | 5,79 |
| Número de sementes | 1,97 |

Entretanto, Laviola et al. (2010), por meio da caracterização morfoagronômica de 175 acessos de pinhão manso verificou que os caracteres quantitativos que mais contribuíram para a divergência genética em ordem decrescente foram juvenilidade, produção de grãos, diâmetro de caule, altura, número de ramos secundários, projeção da copa na linha junto com a altura e altura da primeira inflorescência e projeção de copa na entre linha. Também, Santana et al. (2013) trabalhando com nove combinações híbridas de pinhão manso observaram que o caráter que mais contribuiu para a

divergência genética foi o número de flores feminina, com 21%, seguido do diâmetro do caule, 17%; produção de sementes, 15%; e número de ramos secundários, 14% e os caracteres que menos contribuíram foram: altura da planta, 13%; massa de 100 sementes, 10%; altura da ramificação, 8% e capacidade combinatória e parâmetros genéticos de genótipos de pinhão manso, 2%. Resultados similares foram encontrados por Laviola et al. (2011).

Também, estudos realizados por Carvalho (2010) sobre a divergência entre 20 acessos de progênies meio-irmãos de pinhão manso, observou que os caracteres que mais contribuíram para divergência genética foram Sobrevivência e Ramificações secundárias, apresentaram respectivamente 32,24% e 24,21% de contribuição, seguido de Ramificações primárias (18,42%) e Estatura da planta (13,45%). A variável que menor contribuiu para a divergência foi Diâmetro do caule, que apresentou uma variação de 11,66%.

Os resultados mostraram que os 46 acessos de pinhão manso estudados possuem base genética estreita, causada provavelmente por uma ancestralidade comum ou mesmo uma incipiente atuação de programas de melhoramento da espécie em direcionamentos de hibridações para o aumento de sua variabilidade genética ou enriquecimento da mesma com introduções de novos acessos da espécie. Assim, mais estudos científicos com a cultura são necessários, visando criar estratégias de melhoramento genético para o aumento de variabilidade, seguido de seleções de novas constituições genéticas para a espécie para a obtenção de ganhos genéticos.

CONCLUSÕES

1. Os acessos foram improdutivos, no ambiente em estudo, principalmente para o caráter produtividade de sementes por planta, indicando a necessidade urgente de novos cruzamentos genéticos e seleções para constituições genéticas superiores para a espécie.
2. A caracterização morfoagronômica mostrou baixa variabilidade genética, entre os acessos de pinhão manso analisados, indicando a necessidade de se ampliar a base genética desta espécie.

3. Houve formação de dois grupos divergentes entre os acessos avaliados na análise morfoagronômica, com maior contribuição dos caracteres peso das sementes, peso dos frutos e estatura da planta.

4. Os acessos mais distantes geneticamente, e, portanto promissores para futuras hibridizações foram os genótipos UFRB27 e UFVJC18, seguindo dos cruzamentos UFRB 55 e UFVJC19, UFRB22 e UFVJC18, UFRB41 e UFVJC19.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, F.B.; RESENDE, M.D.V. de; ANSELMO, J.L.; SATURNINO, H.M.; BRENHA, J.A.M.; FREITAS, F.B. de. Variabilidade genética entre acessos de pinhão- manso na fase juvenil. **Magistra**, v.21, p.36-40, 2009.

ACKOM, E. K., ERTEL, J. An alternative energy approach to combating desertification and promotion of sustainable development in droughtregions. In: FORUM DER FORSCHUNG, 18, 2005, Eigenverlag. **Anais...** Eigenverlag: BTU Cottbus, 2005, p. 74-78.

ARRUDA, F. P. et al. Cultivo de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semi-árido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 8, n. 1, p. 789-799, 2004.

BUSSAB, W. de O.; MIAZAKI, E. S.; ANDRADE, D. F. **Introdução à Análise de Agrupamentos**. In: 9º Simpósio Nacional de Probabilidade e Estatística, São Paulo. Associação Brasileira de Estatística, 105p. 1990.

BRASILEIRO, B.P., SILVA, S.A., SOUZA, D.R., SANTOS,P.A.,OLIVEIRA, R.S. LYRA, D.H. Genetic diversity and selection gain in the physic nut (*Jatropha curcas*). **Genetics and Molecular** (2013).

BRASILEIRO, B. P.; SILVA, A. S.; SOUZA, D. R.; OLIVEIRA, R. S.; SANTOS, P. A. Conservação de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) no estado da Bahia, Brasil. **Magistra** v. 24, n. 4 p. 286-292, 2012.

BRASILEIRO, B. P. **Conservação e melhoramento genético do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), brasil**. 2010. 83f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, 2010.

CARVALHO, D. S. **Comportamento genético de progênies de meio-irmãos de pinhão manso no Recôncavo Baiano, Brasil**. 2010. 42f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, 2010.

CHARRAD, M.; GHAZZALI, N.; BOITEAU, V.; NIKNAFS, A. (2011) NbClust: An examination of indices for determining the number of clusters. R package version 1.4. Disponível em: <http://cran.r-project.org/web/packages/NbClust/index.html>.

Cruz, C.D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. Acta Scientiarum. v.35, n.3, p.271-276, 2013

DIAS, L.A.S.; LEME, L.P.; LAVIOLA, B.G.; PALLINI FILHO, A.; PEREIRA, O.L.; CARVALHO, M.; MANFIO, C.E.; SANTOS, A.S.; SOUSA, L.C.A.; OLIVEIRA,

DIAS T.S. , D.C.F.S. **Cultivo de pinhao-manso (*Jatropha curcas* L.) para producao de oleo combustivel.** Vicososa, 2007. v.1, 40p.

DURÃES, F.O.M.; LAVIOLA, B.G.; ALVES, A.A. Potential and challenges in making physic nut (*Jatropha curcas* L.) a viable biofuel crop: the Brazilian perspective. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, **Veterinary Science**, Nutrition and Natural Resources, v.6, n.043, 2011.

DURÃES, F. O. M.; LAVIOLA, B. G. **Pinhão Manso:** matéria-prima potencial para produção de biodiesel no Brasil. 2010. Disponível em: <<http://www.cnpae.embrapa.br/artigosde-divulgacao/pinhao-manso-materia-prima-potencial-para-producao-de-biodiesel-nobrasil.pdf/view>>. Acesso em: 13 de novembro de 2013.

DRUMOND, M.A.; ANJOS, J.B.; MORGADO, L.B.; SOUZA, V.F.; FARIAS, G.A. **Efeito do espaçamento no desenvolvimento do pinhão manso em nossa senhora da Glória, SE.** In: Congresso internacional de agroenergia e biocombustíveis, 2005, Teresina. Anais... Teresina: CPMN, 2007. CD-ROM.

DRUMOND, M.A.; SANTOS, C.A.F.; OLIVEIRA, V.R.; MARTINS, J.C.; ANJOS, J.B.; EVANGELISTA, M.R.V. Desempenho agrônômico de genótipos de pinhão-manso no Semiárido pernambucano. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.40, n.1, p.44-47, 2010.

EVANGELISTA, A. W. P.; MELO, P. C.; OLIVEIRA, E. L.; FARIA, M. A. Produtividade e rendimento de sementes de pinhão-manso submetido à irrigação e adubação com OMM-Tech. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 31, n. 2, p. 315-323, 2011.

FREITAS, R. G. de. **Caracterização de germoplasmas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) por descritores morfo-agronômicos.** Dissertação. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG, p. 62, 2010.

FRITSCHÉ, U. R.; KAMPMAN, B.; BERGSMAN, G. **Better use of biomass for energy:** Position Paper of IEA RETD and IEA Bioenergy. IEA Bioenergy, 2009.

LAVIOLA, B. G.; SILVA, S. D. A.; JUHÁSZ, A. C. P.; ROCHA, R. B.; OLIVEIRA, R. J. P.; ALBRECHT, J. C.; ALVES, A. A.; ROSADO, T. B., Desempenho agrônômico e ganho genético pela seleção de pinhão-manso em três regiões do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.**, Brasília, v.49, n.5, p.356-363, 2014.

LAVIOLA, B.G.; ALVES, A.A.; ROCHA, R.B.; DRUMOND, M.A. The importance of *Jatropha* for Brazil. In: CARELS, N.; SUJATHA, B.; BAHADUR, B. (Ed.). ***Jatropha*, challenges for a new energy crop. Volume 1:** farming, economics and biofuel. New York: Springer, 2013. p.71-94.

LAVIOLA, B.G.; ALVES, A.A.; GURGEL, F. de L.; ROSADO, T.B.; COSTA, R.D.; ROCHA, R.B. Estimate of genetic parameters and predicted gains with

early selection of physic nut families. **Ciência e Agrotecnologia**, v.36, p.163-170, 2012.

LAVIOLA, B.G.; BHERING, L.L.; MENDONÇA, S.; ROSADO, T.B.; ALBRECHT, J.C. Caracterização morfo-agronômica do banco de germoplasma de pinhão manso na fase jovem. **Bioscience Journal**, v.27, p.371-379, 2011.

LAVIOLA, B.G.; BHERING, L.L.; ALBRECHT, J.C.; ROSADO, L.T.B.; ARQUES, S.S.; MARANA, J.C.; RIBEIRO, J.A.A. Caracterização do banco de germoplasma de pinhão manso: resultados do 1º ano de avaliação. Brasília: Embrapa Agroenergia, 2010. 8p. (Embrapa Agroenergia. Comunicado técnico, 3).

LAVIOLA, B. G. Nutrição mineral e adubação do pinhão manso. In: I CIRCUITO NACIONAL DE DIAS DE CAMPO DE PINHÃO MANSO, maio, 2009, Janaúba, MG. **Anais...ABBPPM**, 2009. CD-ROM.

OLIVEIRA, M.M. **Caracterização agrônômica em banco de germoplasma de pinhão manso no recôncavo baiano**. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais-RGV). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia-UFRB. Cruz das Almas- BA, p. 71, 2013.

OLIVEIRA, E. L., FARIA, M. A., EVANGELISTA, A. W. P. & MELO, P. C. Resposta do pinhão-manso à aplicação de níveis de irrigação e doses de adubação potássica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 16(6): 593-598, 2012.

R Development Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria, 2006.

ROSADO, T. B.; LAVIOLA, B. G.; FARIA, D. A.; PAPPAS, M. R.; BHERING, L. L.; QUIRINO, B. F.; GRATTAPAGLIA, D. Molecular markers reveal limited genetic diversity in a large germplasm collection of the biofuelcrop *Jatropha curcas* L. in Brazil. **Crop Science**, Madison, v.50, p. 2372-2382, 2010.

SANTANA, U. A.; CARVALHO, J. L. S. de; BLANK, A. F.; SILVA-MANN, R. Capacidade combinatória e parâmetros genéticos de genótipos de pinhão-manso quanto a caracteres morfoagronômicos. **Pesquisa agropecuária Brasileira**. v.48, n.11, p. 1449-1456. 2013.

SATURNINO, H. M. et al. Cultura do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 229, p. 44-78, 2005.

SILVA, E.B.; TANURE, L.P.P.; SANTOS, S.R.; RESENDE JÚNIOR, P.S.de. Sintomas visuais de deficiências nutricionais em pinhão manso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.4, p.392-397, 2009.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **Indian Journal Genetics & Plant Breeding**, New Delhi, v. 41, p. 237-45, 1981.

SNEATH, P. H.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy**: The principles and practice of numerical classification. San Francisco: W.H. Freeman, 1973. 573p.

STATISTICA. **Statistica for Windows v. 6.0: Computer Program Manual**. Editora StatSoft Inc. Tulsa, UK (CD-Rom), 2002.

SUNIL, N.; KUMAR, V.; SUJATHA, M.; RAO, G.R.; VARAPRASAD, K.S. Minimal descriptors for characterization and evaluation of *Jatropha curcas* L. germplasm for utilization in crop improvement. **Biomass and Bioenergy**, v.48, p.239-249, 2013.

CAPÍTULO 2

ANALISE CONJUNTA DE CARACTERES MORFOAGRONÔMICOS E MOLECULARES EM ACESSOS DE PINHÃO MANSO

ANALISE CONJUNTA DE CARACTERES MORFOAGRONÔMICOS E MOLECULARES EM ACESSOS DE PINHÃO MANSO

Autora: CAMILA NOGUEIRA PESTANA CALDAS

Orientadora: Simone Alves Silva

Co-orientadora: Edna Lôbo Machado

RESUMO: Objetivou-se o estudo da divergência genética em 46 acessos de pinhão manso por meio da análise conjunta de caracteres morfoagronômicos e moleculares. Os dados foram analisados com base em 11 caracteres morfoagronômicos e marcadores moleculares gerados por meio da utilização de 24 *primers* ISSR. Foi obtido um total de 112 fragmentos ISSR, sendo 94 polimórficos. A dissimilaridade genética entre os acessos foi calculada a partir do índice de dissimilaridade de Gower, utilizando-se o método de agrupamento Ward-MLM. Um total de seis grupos foi formado, mostrando que existe divergência genética entre os acessos. De acordo com os valores da matriz de dissimilaridade, os cruzamentos mais promissores para futuras hibridizações dentro do programa de melhoramento genético do pinhão manso são os acessos UFRB60 com UFVJC45 e UFRB61 com UFVJC18. Portanto, a análise conjunta dos caracteres morfoagronômicos e marcadores ISSR é eficiente para avaliar a divergência genética em *Jatropha curcas* L. do BAG da UFRB/NBIO, demonstrando potencial dos acessos para o programa de melhoramento genético da espécie.

Palavras-chave: *Jatropha curcas* L., Marcadores ISSR, Melhoramento genético.

JOINT ANALYSIS OF CHARACTER AND MOLECULAR MORPHOLOGICAL IN PHYSIC NUT OF ACCESS

Author: CAMILA NOGUEIRA PESTANA CALDAS

Adivisor: Simone Alves Silva

Co-adivisor: Edna Lôbo Machado

ABSTRACT: The objective was to study the genetic diversity in 46 accessions of *Jatropha* through joint analysis morfoagronômios and molecular characters. Data were analyzed based on 11 characters morphological and molecular markers generated by using primers 24 ISSR. A total of 112 ISSR fragments was obtained, 94 polymorphic. The genetic dissimilarity between accesses was calculated from the dissimilarity index Gower, using Ward-MLM clustering method. A total of six groups were formed, showing that there is genetic diversity among the accessions. According to the values of the dissimilarity matrix, the most promising crosses for future hybridizations within the genetic improvement of *Jatropha* program are UFRB60 hits with UFVJC45 and UFRB61 with UFVJC18. Therefore, the joint analysis of morphological characters and ISSR markers is efficient to evaluate the genetic divergence in *Jatropha curcas* L. BAG of UFRB / NBIO, demonstrating the potential of access to the breeding program of the species.

Keywords: *Jatropha curcas* L., ISSR markers, Genetic improvement.

INTRODUÇÃO

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) é pertencente à família Euphorbiaceae e contém aproximadamente cerca de 8.000 espécies e 320 gêneros (BARROSO et al., 2007). Possui centro de origem ainda não bem definido, no entanto, acredita-se que seja originário da América Central com ocorrência em todas as regiões intertropicais e até mesmo em zonas temperadas (BHERING et al., 2013) com centro de origem localizado no México (HEIFFIG e CÂMARA, 2006; FAIRLESS, 2007). No Brasil, sua distribuição geográfica é bastante ampla devido à sua rusticidade e adaptabilidade a diferentes condições ambientais e climáticas (ARRUDA et al., 2004; SATURNINO et al., 2005; LAVIOLA et al., 2013).

Nos últimos anos, o alto índice de poluição, causado principalmente pelos combustíveis fósseis, despertou o interesse em vários estudos sobre a produção de biocombustível (FREITAS et al., 2011). Portanto, o pinhão manso é considerado uma oleaginosa promissora como fontes de combustível alternativo aos derivados do petróleo (SATURNINO et al., 2005; LAVIOLA et al., 2013), auxiliando na redução dos gases que corroboram com efeito estufa (ACKON e ERTEL, 2005)

O Pinhão manso é uma cultura que não compete diretamente com a agricultura de alimentos e é compatível com perfil da agricultura familiar (LAVIOLA et al., 2009; ROSADO et al., 2010; LAVIOLA, et al., 2013). Além disso, quando comparado com o óleo de outras espécies como soja, mamona e palma observa-se qualidade superior quanto à estabilidade de oxidação, viscosidade e ponto de congelamento, respectivamente (CARELS, 2009).

O rendimento potencial do pinhão manso na idade adulta é superior a 1.500 kg de óleo/há⁻¹ (DRUMOND et al., 2010; ROCHA et al., 2012). O teor de óleo nas sementes varia entre 30 e 40%, podendo ser afetada por fatores ambientais e ocorrência de pragas e doenças (FREITAS et al., 2011) além, do tipo de solo, nutrientes e condições de precipitação que se encontra a cultura (FRANCIS et al., 2005). O óleo pode ser convertido por transesterificação em biodiesel com alta qualidade (BASHA et al., 2009). A espécie *Jatropha curcas*

ainda encontra-se em processo de domesticação e não existem cultivares consolidadas (DURÃES et al., 2011; LAVIOLA et al., 2014). Os trabalhos de melhoramento estão em fase inicial de desenvolvimento, principalmente devido alguns atributos agrônômicos não alcançados como a desuniformidade na maturação dos frutos, o uso econômico da torta, produção irregular, safra não definida, entre outros (DURÃES et al., 2011; BRASILEIRO et al., 2012; OLIVEIRA, 2013).

Apesar do pinhão manso está presente em diversas partes do Brasil e do mundo, o seu cultivo foi fortemente estimulado sem o conhecimento agrônômico da espécie e diversidade genética limitada (ROSADO et al., 2010).

O sucesso do cultivo ainda depende do desenvolvimento de técnica agrônômica para auxiliar na obtenção de altas taxas de produtividades nas diferentes regiões do Brasil (FREITAS et al., 2011; LAVIOLA et al., 2012; OLIVEIRA, 2013). Sendo assim, o estabelecimento de cultivares é importante para o pinhão manso se consolidar no futuro como fonte alternativa para a produção de biodiesel (DURÃES et al., 2011; BRASILEIRO et al., 2012, LAVIOLA et al., 2013, OLIVEIRA, 2013).

O conhecimento sobre a divergência genética de pinhão manso no Brasil faz-se necessário, visando saber o quanto uma constituição genética se difere da outra para seleção dos divergentes e com bom desempenho morfoagronômico, como também direcionar à novas hibridações visando gerar variabilidade, formação de clones e/ou híbridos da espécie.

Frente a esta situação da cultura, houve interesse da comunidade científica do Brasil e de outros países à realização de estudo, através de coleta dentro do seu território e ao redor do mundo, com a finalidade de conhecer a diversidade genética dessa espécie (SATURNINO et al., 2005; FREITAS et al., 2011).

Os marcadores moleculares são ferramentas fundamentais em diversos estudos, a exemplo da diversidade genética, por possibilitar avaliação de um número elevado de genótipo em curto prazo, por apresentar um alto grau de polimorfismo, além de não sofrerem influência ambiental, (CUNHA et al., 2006).

Também, podem detectar a variabilidade no genoma independente do estágio de desenvolvimento da planta (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 2008).

Marcadores moleculares ISSR são amplamente utilizados em estudos da diversidade genética (ROSADO et al., 2010; SOARES 2010; SANTANA et al., 2011; GRATIVOL et al., 2011), bem como, em aplicações na genética de populações, identificação de cultivares, no estudo de fluxo gênico e análise de paternidade (REDDY; SARLA; SIDDIQ, 2002).

As características adicionais dos marcadores moleculares quando combinadas com as morfológicas, permitem uma análise mais completa do germoplasma (FALEIRO, 2007). As variáveis associadas a um experimento quando avaliadas isoladamente não fornecem informações completas por desprezarem a correlação existente entre elas. Já quando analisadas simultaneamente, ganham dependência linear ou correlações e com isso é possível ordenar e agrupar os valores obtidos e investigar a dependência entre as variáveis (CELLI, 2009).

Portanto, os programas de melhoramento genético para a espécie, procuram-se selecionar constituições genéticas superiores, mais adaptadas a diversas condições de ambiente de cultivo e com aumento em sua produtividade e atributos agrônômicos responsáveis por um maior rendimento de óleo e seus subprodutos. Neste contexto, o trabalho teve como objetivo quantificar a variabilidade genética entre acessos de *Jatropha curcas L.* quanto aos caracteres morfoagronômicos e dados moleculares ISSR, visando auxiliar os programas de melhoramento genético da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) e Laboratório do Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO), pertencente ao Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), situados no Campus Universitário de Cruz das Almas, localizado a 12°40'12" longitude oeste e

39°06'07" latitude sul, com altitude média de 226 metros. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, caracterizado como quente e úmido Am e Aw, com pluviosidade média anual de 1.224 mm. A temperatura média anual de 24°C e umidade relativa do ar de 80%.

Caracterização Fenotípica

A caracterização morfoagronômica foi realizada em um total de 46 acessos. Foram realizadas três avaliações, com a aplicação de descritores morfoagronômicos em épocas distintas sendo a primeira em fevereiro/2013, aos 32 meses, a segunda em junho/2013 aos 36 meses e a terceira avaliação em dezembro/2013 quando as plantas atingiram 42 meses de idade, com a avaliação dos descritores: Estatura de planta (EST), onde foi considerada a distância entre a superfície do solo e a extremidade apical da última folha; Diâmetro do caule (DC), dimensionado no colo da planta o mais próximo do solo, com a utilização de um paquímetro; Número de ramificações primárias (NRP) e secundárias (NRS) por planta, obtido pela contagem direta do número de ramos inseridos no caule principal, Número de fruto por planta (NF), Número de cacho de fruto por plantas (NCF), Número de cacho de inflorescência por planta (NCFL), Número de sementes por planta (NS), Número Médio de sementes por fruto (NMSF), contagem direta; Peso dos frutos por planta (PF) e Peso das sementes por planta (PS), utilizando balança semianalítica digital Marte (modelo AL 500C).

Caracterização Genotípica

Material Vegetal

O material utilizado foi coletado do BAG do pinhão manso do NBIO/CCAAB/UFRB. Foram realizadas coletas de folhas jovens e saudáveis

de 46 acessos de pinhão manso:UFRB 22, UFRB 23, UFRB 24, UFRB 28, UFRB29, UFRB 30, UFRB 31, UFRB 32, UFRB33, UFRB35, UFRB 36, UFRB 37, UFRB 38, UFRB 39, UFRB 40, UFRB 41, UFRB 42, UFRB 43, UFRB 44, UFRB 45, UFRB 47, UFRB 50, UFRB 53, UFRB 54, UFRB 55, UFRB 56, UFRB 58, UFRB 59, UFRB 60, UFRB 61, UFRB 62, UFVJC03, UFVJC 05, UFVJC 10, UFVJC 18, UFVJC 19, UFVJC 23, UFVJC 40, UFVJC 41, UFVJC 45, UFVJC 46, UFVJC 52, UFVJC 65, UFVJC 74, UFVJC 84.

O material coletado foi desinfestado em solução de hipoclorito de sódio a 20% (produto comercial), enxaguado com água destilada e seco com papel toalha e armazenado em freezer a -80 até o momento do processo da extração de DNA.

Extração de DNA

O DNA genômico das folhas foi extraído utilizando-se o método proposto por Murray e Thompson (1980), com modificações. Cerca de 300 mg do tecido vegetal foi macerado em um almofariz com auxílio de um pistilo na presença N₂ líquido. Em seguida, o macerado foi transferido para microtubos de 2 mL, onde foram adicionados 1000 µL da solução tampão de extração a 65°C (CTAB 10%, NaCl 5M, Tris HCl 1M pH 8,0, EDTA 0,5M pH, β-mercaptoetanol 2%, PVP 2% e água ultra-pura q.s.p.) após, as amostras foram homogeneizadas em vortex, e incubadas em banho-maria a 65°C por 60 minutos, sendo homogeneizadas cuidadosamente por inversão a cada 10 minutos. Decorrido o tempo, as amostras foram retiradas do banho-maria e adicionaram-se 700 µL de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1). O material foi homogeneizado em vortex e, em seguida, centrifugado por 10 minutos a 10.000 rpm (em centrífuga VS-15000c. FNII). Logo após, foi coletado o sobrenadante e transferido para novos tubos de 1,5 mL devidamente identificados. Ao sobrenadante foram adicionados 600 µL de álcool isopropílico (isopropanol) gelado. As amostras foram homogeneizadas e incubadas por 20 minutos à - 20°C. Em seguida, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 10.000 rpm, após o

sobrenadante foi descartado. O precipitado foi lavado com 500 μL de etanol 70% gelado e as amostras foram centrifugadas por 3 minutos a 10.000 rpm, com a finalidade de retirar os sais presentes. Depois, o precipitado foi seco e ressuscitado em tampão TE contendo 2 μL de RNase (10 mg/mL). As amostras foram incubadas em banho-maria a 37°C durante 30 minutos. Após, precipitou-se o DNA em 20 μL de acetato de sódio e 200 μL de etanol absoluto e incubada à -20°C por 20 minutos. Em seguida, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 10.000 rpm e o precipitado foi lavado com 500 μL de etanol 70% gelado e centrifugadas por 3 minutos a 8.000 rpm. Após o pellet foi ressuscitado em 100 μL de TE. As amostras foram armazenadas em freezer a -20°C.

Quantificação do DNA genômico

Para verificação da qualidade e quantidade do DNA extraído, um total de 3 μL do DNA foi adicionado a 5 μL de solução corante (30% de glicerol e 0,25% de azul de bromofenol) e as amostras foram aplicadas em gel de agarose 0,8%, corado com brometo de etídeo ($0,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) e submetido à eletroforese por aproximadamente uma hora a 80 vts. A quantidade de DNA foi avaliada por análise comparativa com um DNA de concentração conhecida, DNA lambda-Invitrogen. A partir de então, para realizar as reações de amplificação, as amostras foram diluídas em tampão TE para ajuste de sua concentração para 5 $\text{ng}/\mu\text{L}^{-1}$.

Reação de amplificação

Cada reação de amplificação foi preparada em um volume final de 20 μL , contendo: 2 μL de tampão 1X (50 mM tris-HCL, 20 mM KCL), 0,8 μL de dNTPs mix (2,5 mM de cada), 0,6 μL de MgCl_2 (1,5 mM), 0,3 μL de iniciadores aleatórios, 0,2 μL de Taq DNA polimerase (5U/ μL - Invitogen), 3 μL de DNA

genômico (5 ng/ μ L) e água ultra-pura q.s.p. As amplificações foram realizadas de acordo com o protocolo proposto por Williams et al. (1990) e as amostras amplificadas em termociclador Applied Biosystems (Veriti 96 well Thermal cycle), empregando-se um programa com um ciclo inicial de 94°C por 1 minuto e 40 ciclos de: 94°C por 30 segundos, 35°C por 30 segundos e 72°C por 1 minuto, seguida de uma extensão final de 7 minutos a 72°C. Os produtos resultantes das amplificações foram separadas por eletroforese em gel de agarose 1,5% (p/v) corado com brometo de etídeo (0,5 mg/mL⁻¹) em tampão TBE 1 X (89 mM Tris-borato, 2 mM EDTA) por aproximadamente 1 hora e 30 minutos a 100V. Como padrão de peso molecular foi utilizado o *ladder* 1 Kb (Promega). Os fragmentos foram visualizados e fotodocumentado por meio do Sistema Digital Locus Biotecnologia (Molecular Imagine).

Seleção prévia de iniciadores ISSR

Inicialmente foi efetuada uma triagem para a seleção de iniciadores com bom padrão de amplificação. Para esse teste foram utilizados dois acessos distintos (Tabela 1). Um total de 103 oligonucleotídeos foi utilizado nessa triagem inicial (Tabela 1).

Tabela 1: Acessos e iniciadores ISSR utilizados na triagem.

| Acessos | Iniciadores ISSR |
|-------------------|--|
| UFRB22 UFVJC45 | e 829-DICA, 830- DICA3'G, 831-DICA3'RG, 832- DICA3'T, 833-DICA3'YG, 834-DICA5'CR, 835-DICA5'CY, 836-DICA5'G, 837-DICA5'T, 838- DIGA, 839-DIGA3'C, 840 – DIGA3'RC, 841-DIGA3'T, 842-DIGA3'YC, 843 – DIGA5'C, 844-DIGA5'CR, 845-DIGA5'CY, 846-DIGA5'T, 847-DIGT, 848-DIGT3'A, 849-DIGT3'C, 850-DIGT3'RG, 851-DIGT3'YG, 852-DIGT5'A, 853-DIGT5'C, 854-DIGT5'CR, 855 –DIGT5'CY, 856-TriCAC, 857-TriCAC3'RC, 858-TriCAC3'YC, 859-TriCAC5'CR, 860- |

| | |
|---|-----|
| TriCAC5'CY, 861-TriCAG, 862-TriCAG3'RC, 863-TriCAG3'YC, 864-TriCAG5'CR, 865-TriCAG5'CY, 866-TriGTG, 867-TriGTG3'RC, 868-TriGTG3'YC, 869-TriGTG5'CR, 870-TriGTG5'CY, 871-TriTGT, 872-TriTGT3'RC, 873-TriTGT3'YC, 874-TriTGT5'CR, 875-TriTGT5'CY, 876-TriAAT3'RC, 877-TriAAC3'RC, 878-TriAAG3'RC, 879-TriATA3'RC, 880-TriATT3'RC, 881-TriATC3'RC, 882 -TriATG3'RC, 883-TriACA3'RC, 884-TriACT3'RC, 885-TriACC3'RC, 886-TriACG3'RC, 887-TriAGA3'RC, 888-TriAGT3'RC, 889-TriAGC3'RT, 890-TriAGG3'RC, 891 -TriTAA3'RC, 892-TriTAT3'RC, 893-TriTAC3'RC, 894-TriTAG3'RC, 895-TriTTA3'RC, 896-TriTTC3'RC, 897-TriTTG3'RC, 898-TriTCA3'RC, 899-TriTCT3'RC, 900-TriTCC3'RC, 901-TriTCG3'RC, 902-TriTGA3'RC, 903-TriTGC3'RC, 904-TriTGG3'RC, 905-TriCAA3'RC, 906-TriCAT3'RC, 907-TriCAC3'RC, 908-TriCTA3'RC, 909-TriCTT3'RC, 910-TriCTC3'RC, 911-TriCTG3'RC, 912-TriCCT3'RC, 913-TriCCG3'RC, 914-TriCGA3'RC, 915-TriCGT3'RC, 916-TriCGC3'RC, 917-TriCGG3'RC, 918-TriGAA3'RC, 919-TriGAT3'RC, 920-TriGAC3'RC, 921-TriGAG3'RC, 922-TriGTA3'RC, 923-TriGTT3'RC, 924-TriGTC3'RC, 925-TriGCA3'RC, 926-TriGCT3'RC, 927-TriGCC3'RC, 928-TriGCG3'RC, 929-TriGGA3'RC, 930-TriGGT3'RC, 931-TriGGC3'RC. | |
| Total | 103 |

Análise dos dados

Os dados foram analisados com base nos 11 caracteres morfoagronômicos e fragmentos gerados por meio dos *primers* ISSR.

Por se tratar de um marcador dominante (ISSR), os dados foram computados como ausência (0) e presença (1) de bandas nos géis fotografados.

O agrupamento foi construído utilizando o método Ward-MLM (*ModifiedLocationModel*). A correlação cofenética entre a matriz de distância e a matriz de agrupamento, estimada por meio da análise conjunta obtida a partir de dados morfoagronômicos e dos dados binários (ISSR), obtidas com base no algoritmo de Gower (1971), expresso por:

$$d_{ij} = \frac{\sum_{k=1}^p w_{ijk} d_{ijk}}{\sum_{k=1}^p w_{ijk}}$$

K = o número de variáveis ($k = 1, 2, \dots, p$); **i** e **j** = dois indivíduos que representem o acesso; **Wijk**= peso dado à comparação **ijk**, atribuindo valor **1** para comparações válidas e valor **0** para comparações inválidas (quando o valor da variável está ausente em um ou ambos indivíduos); **dijk**= contribuição da variável **k** na dissimilaridade entre os indivíduos **i** e **j**, com valores entre **0** e **1**.

O dendrograma foi gerado por meio do software Statistica (STATISTICA, 2002) e o número de grupos foi definido utilizando o pacote NbClust do R (CHARRAD et al., 2013) por meio do critério pseudo- t^2 e as análises foram realizadas por meio dos programas estatísticos R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2006) e GENES (CRUZ, 2013). Sendo que, a significância da correlação cofenética foi calculada pelos testes t.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 103 iniciadores ISSR testados, quanto ao padrão de amplificação das amostras, 24 foram selecionados por apresentarem quantidade, qualidade

e reprodutibilidade de bandas amplificadas. Assim, esses iniciadores foram usados para a realização da genotipagem dos 46 acessos (Tabela 2).

Os 24 iniciadores ISSR utilizados foram polimórficos produzindo fragmentos que variaram entre 90 e 1550 pb, sendo a maior variação encontrada pelo primer 914 (TriCGA3'RC) de 90 a 1500 pb, onde o mesmo gerou um total de 6 fragmentos com 100% de polimorfismo (Tabela 2). Basha et al. (2009) e Sunil et al. (2008) estudando a diversidade genética em pinhão manso, por meio de marcadores moleculares ISSR, registraram fragmentos entre 100 a 3500 pb e 250 a 3000 pb, respectivamente.

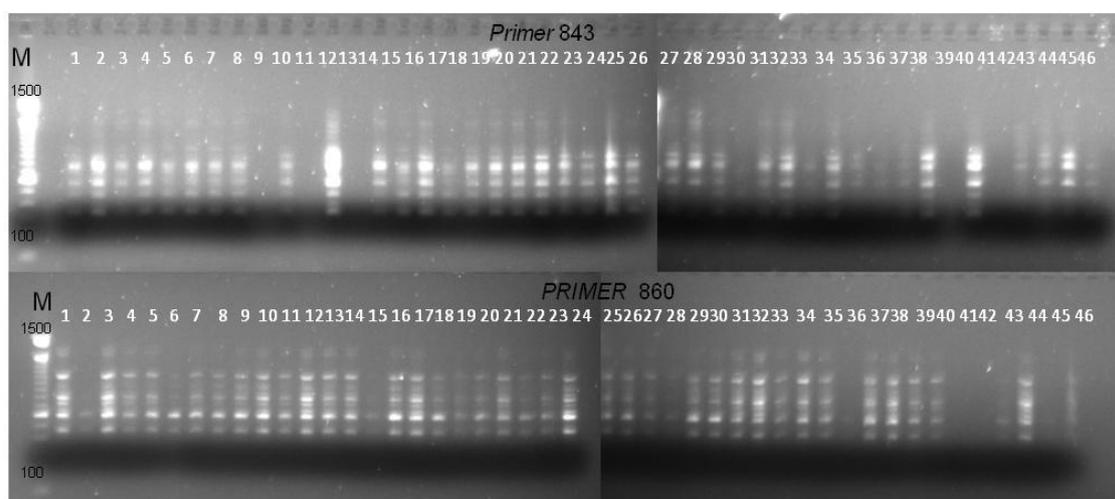
De um total de 112 fragmentos obtidos, 94 (84%) foram polimórficos e 18 (16%) monomórficos revelando alto nível de dissimilaridade genética entre os genótipos estudados. Cada iniciador produziu em média 4,6 fragmentos, dos quais 3,9 apresentaram polimorfismo. A menor e a maior variação de fragmentos polimórficos foram encontradas para os iniciadores 839 (DIGA3'C) e 885 (TriACC3'RC) e 843 (DIGA5'C) e 860 (TriCAC5'CY) com número de 1 e 8, respectivamente. Os iniciadores 843 e 860 apresentaram tamanho de fragmentos variando entre 300 e 1450 pb. e 450 e 1470pb, respectivamente. Os perfis eletroforéticos desses iniciadores estão representados na Figura 1.

Tabela 2: *Primers* utilizados para análise de ISSR, suas sequências, número total de bandas monomórficas e polimórficas geradas pela amplificação do DNA dos 46 acessos de *J. curcas* L.

| Número | Primer | Sequência 5' ---- 3' | Nº de bandas | | |
|--------|----------|-------------------------|--------------|-------------|-------------|
| | | | Total | Polimórfica | Monomórfica |
| 839 | DIGA3'C | GAGAGAGAGAGAGAGAC | 2 | 1 | 1 |
| 840 | DIGA3'RC | GAGAGAGAGAGAGAGARC | 6 | 5 | 1 |
| 841 | DIGA3'T | GAGAGAGAGAGAGAGAT | 4 | 3 | 1 |
| 842 | DIGA3'YC | GAGAGAGAGAGAGAGAYC | 4 | 3 | 1 |
| 843 | DIGA5'C | CGAGAGAGAGAGAGAGA | 8 | 8 | 0 |
| 845 | DIGA5'CY | CYGAGAGAGAGAGAGAGA | 9 | 6 | 3 |
| 846 | DIGA5'T | TGAGAGAGAGAGAGAGA | 4 | 4 | 0 |
| 851 | DIGT3'YG | GTGTGTGTGTGTGTGTYG | 2 | 2 | 0 |
| 852 | DIGT5'A | AGTGTGTGTGTGTGTGT | 4 | 3 | 1 |
| 853 | DIGT5'C | CGTGTGTGTGTGTGTGT | 3 | 2 | 1 |

Tabela 2. Continuação...

| | | | | | |
|-------|------------|--------------------|-----|----|----|
| 855 | DIGT5'CY | CYGTGTGTGTGTGTGTGT | 2 | 2 | 0 |
| 857 | TriCAC3'RC | CACCACCACCACCACRC | 3 | 3 | 0 |
| 859 | TriCAC5'CR | CRCACCACCACCACCAC | 7 | 5 | 2 |
| 861 | TriCAG | CAGCAGCAGCAGCAG | 4 | 3 | 1 |
| 864 | TriCAG5'CR | CRCAGCAGCAGCAGCAG | 4 | 3 | 1 |
| 869 | TriGTG5'CR | CRGTGGTGGTGGTGGTG | 7 | 6 | 1 |
| 885 | TriACC3'RC | ACCACCACCACCACCRC | 2 | 1 | 1 |
| 887 | TriAGA3'RC | AGAAGAAGAAGAAGARC | 4 | 4 | 0 |
| 903 | TriTGC3'RC | TGCTGCTGCTGCTGCRC | 5 | 5 | 0 |
| 912 | TriCCT3'RC | CCTCCTCCTCCTCCTRC | 4 | 3 | 1 |
| 914 | TriCGA3'RC | CGACGACGACGACGARC | 6 | 6 | 0 |
| 917 | TriCGG3'RC | CGGCGGCGGCGGCGGRC | 3 | 3 | 0 |
| 930 | TriGGT3'RC | GGTGGTGGTGGTGGTRC | 6 | 5 | 1 |
| Total | | | 112 | 94 | 18 |

**FIGURA 1.** Padrões de bandeamento de indivíduos de pinhão manso obtidos, utilizando os iniciadores 843 e 860 – Padrão de peso molecular 1 kb.

Os marcadores ISSR foram eficientes na detecção de variabilidade genética neste estudo, pois obteve alta taxa de polimorfismo (84%). Resultados semelhantes foram obtidos por (RAM et al., 2008; HE et al., 2007; ALKIMIM, 2011; KUMAR, PARTHIBAN e RAO, 2008).

No entanto, outros estudos com marcadores moleculares ISSR (SOUZA et al., 2009; SOARES, 2010; BASHA; SUJATHA, 2007; OLIVEIRA et al., 2013) relataram baixa divergência genética no germoplasma de pinhão manso.

De acordo com a distância genética pelo número de discordância existente entre os genótipos, observado na matriz de dissimilaridade genética dos 46 acessos obtida a partir do coeficiente de dissimilaridade de Gower, baseado na caracterização morfoagronômica e molecular (Tabela 3), revelou variação de distância de 0,06 e 0,52 entre os acessos e distância média de 0,28. Os acessos mais similares geneticamente foram UFRB60 e UFVJC45, validado com o valor mínimo de 0,06 e os mais dissimilares geneticamente foram os acessos UFRB61 e UFVJC18, com o valor máximo de 0,52. Deste modo, esses cruzamentos visam à seleção de constituições genéticas promissoras para futuras hibridações dentro de um programa de melhoramento genético do pinhão manso. Outras combinações promissoras seriam entre os acessos UFVJC10 e UFRB44, com o valor de 0,51, UFVJC18 e UFRB58, UFVJC18 e UFRB 62, que apresentaram um valor de dissimilaridade de 0,50.

Os acessos mais similares UFRB60 e UFVJC45 apresentaram valores médios a partir das três avaliações NCF(1,12; 0,98), NCFL(3,24; 2,38), NRP(2,76; 2,89), NRS(17,73; 14,08), EST(166,41; 172,89), DC(69,63;67,32), NF(1,02; 1,00), PF(1,92; 1,93), PS(1,41; 1,40), NMF(0,68; 0,63), NS(2,67; 2,74), PROD(2,35; 2,33) respectivamente. Já, os acessos mais distantes geneticamente UFRB61 e UFVJC18 apresentaram valores médios NCF(1,22; 0,79), NCFL(2,01; 3,95), NRP(1,90; 2,97), NRS(12,31; 18,82), EST(155,63; 167,33), DC(61,20; 65,67), NF(1,41; 1,62), PF(2,57; 2,76), PS(1,91; 1,88), NMF(1,05; 0,48), NS(3,80; 4,02), PROD(3,18; 3,14) respectivamente.

Resultados similares foi encontrado por Alves et al.(2013), estudando a variabilidade genética em 117 acessos de pinhão através da análise conjunta de dados fenotípicos e moleculares (RAPD e SSR) apresentando valores da matriz de dissimilaridade genética com base no método de gower, revelando variação de distância genética 0,06 e 0,48 entre os acessos e distância média de 0,20.

Soares (2010), ao avaliar a diversidade genética entre 46 genótipos de pinhão manso, provenientes de diferentes regiões, por meio de marcadores dominantes (RAPD e ISSR) revelou a distância média de 20,90%, sendo a distância genética mínima de 1,26% e máxima de 76,15%. Ainda, trabalhos realizados por Rosado et al, (2009), sobre a diversidade genética de 192 acessos de pinhão manso por meio de marcadores RAPD e SSR apresentou a matriz de similaridade gerada pelo Índice de Jaccard revelou variação de 0,14 a 1,0 entre os acessos, cujo o menor índice de similaridade foi 0,11 e similaridade média entre os acessos avaliados de 89%. Também, Gomes (2013) estudando a caracterização molecular em 97 acessos de pinhão manso por meio de 11 marcadores ISSR, obteve valores distância genética mínima de 0,132 e máxima de 0,915.

O dendrograma obtido através da utilização do método Ward-MLM possibilitou a separação dos 46 acessos de pinhão manso em seis grupos distintos. Os acessos foram agrupados com a seguinte distribuição: Grupo1: UFRB22, UFRB24, UFRB27, UFRB28, UFRB33, UFRB37, UFRB39, UFRB41, UFRB43, UFRB45, UFRB47, UFRB50, Grupo 2: UFRB23, UFRB54, UFRB55, UFRB56, UFVJC19, UFVJC23, UFVJC65 e UFVJC84, Grupo 3: UFRB29, UFRB30, UFRB31, UFRB32, , UFRB35, UFRB40, UFRB42, UFRB44, UFVJC40, UFVJC41, UFVJC52 e UFVJC74, Grupo 4: UFRB36, UFVJC18 e UFVJC46, Grupo 5: UFRB38, UFRB53, UFRB60, UFVJC03, UFVJC10 e UFVJC45 e Grupo 6:UFRB58, UFRB59, UFRB61, UFRB62, UFVJC05. Deste modo, os grupos 1 e 3 foram agrupados com 26% dos acessos, o grupo 2, 4, 5 e 6 foram formados com respectivamente 17%, 7%, 13% e 11% dos 46 acessos avaliados, e sugerindo que há dissimilaridade genética entre eles.

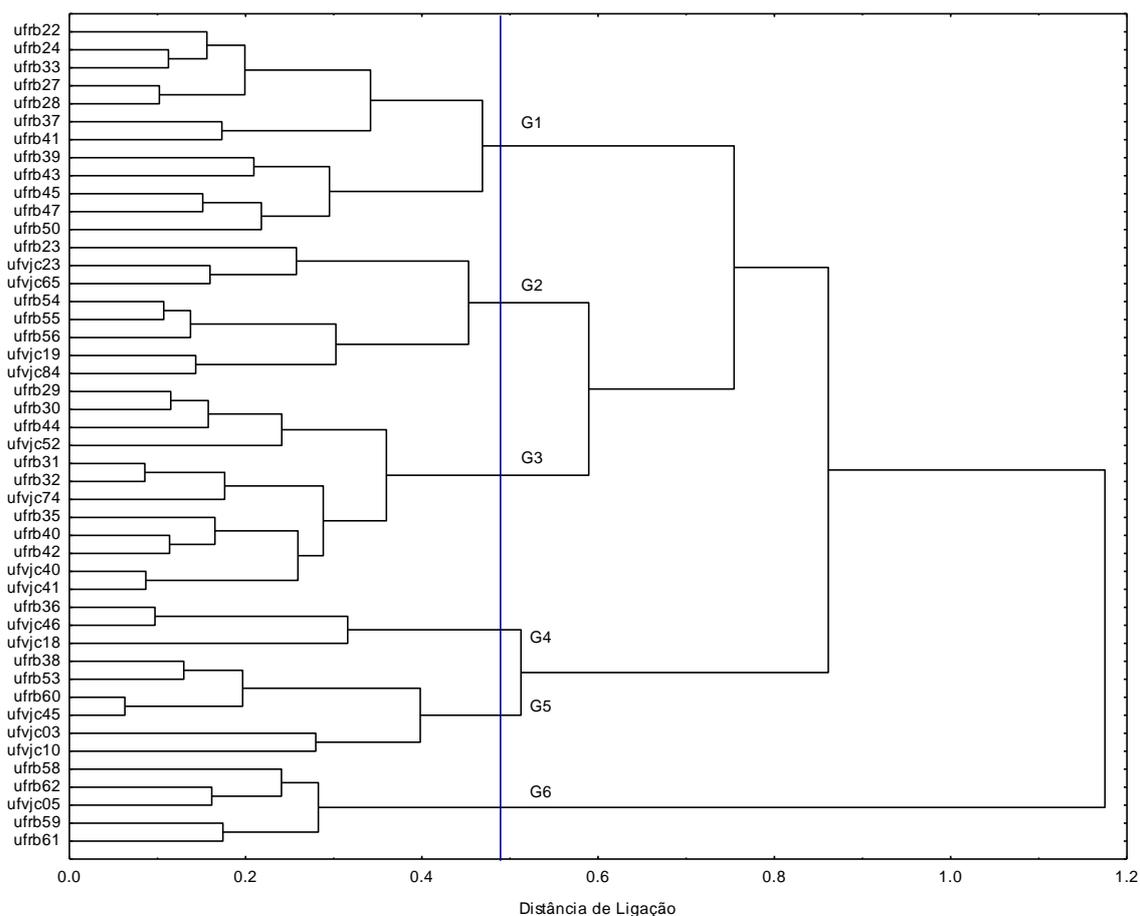


FIGURA 2. Dissimilaridade genética entre 46 acessos de pinhão manso obtido utilizando o método Ward-MLM, a partir do coeficiente de dissimilaridade de Gower.

Este resultados corroboram com Oliveira et al.,(2013), que avaliaram a variabilidade genética em 40 genótipos de pinhão manso, por meio de 30 iniciadores RAPD. O dendrograma possibilitou a formação de 6 grupos distintos, confirmando a presença de variabilidade genética entre os genótipos de pinhão manso.

Basha et al., (2009) ao analisarem a variabilidade genética em 72 acessos de pinhão manso de 13 países distintos por meio de marcadores moleculares dominantes (RAPD-ISSR), possibilitou a separação dos 72 acessos em oito grupos diferentes. Também, Basha et al. 2009, estudando a diversidade em diversos acessos tóxicos e não tóxicos da Índia e México, respectivamente, identificou variabilidade significativa entre acessos tóxicos e não tóxicos, porém encontrou baixa variabilidade genética entre acessos do mesmo país.

Resultado controverso foi encontrado por Alves et al., 2013, estudando a variabilidade genética em 117 acessos de pinhão por meio da análise conjunta de dados fenotípicos e moleculares (RAPD e SSR). O dendrograma baseado no método de Tocher possibilitou a separação dos acessos em 14 grupos distintos, sendo que, a maioria destes concentrou-se em um único grupo.

No entanto, resultados diferentes foram encontrados por Gomes (2013), estudando a caracterização molecular em 97 acessos de pinhão manso por meio de 11 marcadores ISSR possibilitaram a discriminação de diferentes acessos em quatro grupos distintos. Também, Soares (2010) ao estudar a diversidade genética de 46 genótipos pinhão manso, através de marcadores RAPD e ISSR, o dendrograma possibilitou a formação de 2 grupos, onde 93,48% dos genótipos avaliados se concentraram em apenas um grupo, indicando baixa divergência genética entre os genótipos estudados.

Estudos sobre análise conjunta através de dados morfoagronômicos e moleculares em pinhão manso ainda são bastante limitados. Como exemplos podem ser encontrados na literatura: trabalho realizado por Bherning, et al, 2011 sobre a diversidade genética entre 117 acessos de pinhão através da análise conjunta entre 17 caracteres agrônômicos e 15 marcadores moleculares (13 RAPD e 2 SSR), utilizou diferentes estratégias de análise

conjunta e estabeleceu a soma das matrizes de Gower e Jaccard como a metodologia mais indicada para proceder a realização conjunta da diversidade genética, uma vez que as magnitudes das correlações utilizando este tipo de medida de distância fenotípica foram maiores do que a medida utilizando a distância de Mahalanobis. Este fato foi verificado, através da correlação significativa entre as matrizes fenotípicas obtidas pelas duas metodologias e apresentando valor acima de 0,6 que é considerado elevado para correlação. Também, ao utilizar a metodologia de Gower não se faz necessário padronizar as matrizes de distância antes de proceder a soma entre as individuais, uma vez que estas já possuem o mesmo intervalo de variação de 0 a 1, fato importante, que pode ter sido levado em consideração para realização da análise conjunta. Portanto, segundo os autores, a metodologia da soma de matrizes de Gower e Jaccard mostrou-se promissora para utilização conjunta de informações genotípicas e moleculares.

Oliveira et al., (2011), avaliando a distância genética entre 18 acessos de pinhão manso por meio da avaliação conjunta, utilizando marcadores moleculares microssatélites e caracteres morfológicos, confirmaram a existência de grande variabilidade genética entre acessos de pinhão manso. Indicando que, tanto o método molecular quanto o morfológico pode ser empregado com êxito para se mensurar a distância entre acessos de pinhão manso.

Também, Alves et al., (2013), estudando a variabilidade genética em 117 acessos de pinhão através da análise conjunta de dados fenotípicos e moleculares apresentou valores da matriz de dissimilaridade genética com base no método de Gower; observando que em comparação com estudos anteriores, a análise conjunta da diversidade fenotípica e molecular revelou uma nova estratégia de avaliação sobre a diversidade genética do germoplasma de pinhão-manso cultivado. Sendo que, a dissimilaridade conjunta foi superior a dissimilaridade da maioria ou molecular (156% e 64%, respectivamente).

Portanto, a identificação de constituições genéticas promissoras para futuras hibridações, por meio da análise conjunta de caracteres morfoagronômicos e moleculares permitiu maior poder discriminatório

formação de grupos gerando informações para o melhoramento genético do pinhão manso e um melhor conhecimento à respeito da genética da espécie.

CONCLUSÕES

1- A análise conjunta por meio de marcadores moleculares ISSR e caracteres morfoagronômicos, foi eficiente para avaliar a diversidade genética entre acessos de pinhão manso.

2- Existe variabilidade genética entre os acessos de *Jatropha curcas* L. do BAG da UFRB/NBIO, com formação de seis grupos distintos, considerando a análise conjunta dos dados morfoagronômicos e moleculares, demonstrando potencial dos acessos para o programa de melhoramento genético da espécie.

3- Os acessos que se apresentaram mais distantes foram UFRB61 com UFVJC18 sendo potenciais para futuras hibridações dentro do programa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKOM, E. K., ERTEL, J. An alternative energy approach to combating desertification and promotion of sustainable development in drought regions. In: FORUM DER FORSCHUNG, 18, 2005, Eigenverlag. **Anais...** Eigenverlag: BTU Cottbus, 2005, p. 74-78.

ALKIMIM, E. R. **Caracterização Molecular de Acessos de *Jatropha***. Monografia (Agronomia). Universidade Estadual de Montes Claros- Unimontes. Janaúba- MG, p.47, 2011.

ALVES, A. A.; BHERING, L. L.; ROSADO, T. B.; LAVIOLA, B. G.; FORMIGHIERE, E. D.; CRUZ, C. D. Joint analysis of phenotypic and molecular diversity provides new insights on the genetic variability of the Brazilian physic nut germplasm bank. **Genet. Mol. Biol.** v.36, n.3, p. 371-381, 2013.

ARRUDA, F. P. et al. Cultivo de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semi-árido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibras**, Campina Grande, v. 8, n. 1, p. 789-799, 2004.

BARROSO, G. M., ICHASO, C. L. F., GUIMARÃES, E. F. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Imprensa Universitária, v.1, Universidade Federal de Viçosa. p.309. 2007.

BASHA, S. D.; FRANCIS, G.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K.; SUJATHA, M. A comparative study of biochemical traits and molecular markers for assessment of genetic relationships between *Jatropha curcas* L. germplasm from different countries. **Plant Science**, Limerick, v. 176, p.812-823, 2009.

BASHA, S. D.; SUJATHA, M. Inter and intra-population variability of *Jatropha curcas* (L.) characterized by RAPD and ISSR markers and development of population-specific SCAR markers. **Euphytica**, Wageningen, v. 156, p. 375-386, 2007.

BHERING, L.L.; BARRERA, C.F.; ORTEGA, D.; LAVIOLA, B.G.; ALVES, A.A.; ROSADO, T.B.; CRUZ, C.D. Differential response of *Jatropha* genotypes to different selection methods indicates that combined selection is more suited than other methods for rapid improvement of the species. **Industrial Crops and Products**, v.41, p.260-265, 2013.

BHERING, L. L.; LAVIOLA, Bruno Galvêas ; ROSADO, T. B. ; ALVES, A. A. . Metodologias de avaliação conjunta da diversidade genética baseada em informações Agronômicas e moleculares aplicadas a pinhão manso. In: 6º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 2011, Buzios. 6º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas. Buzios: SBMP, 2011. v. 6.

BRASILEIRO, B. P.; SILVA, A. S.; SOUZA, D. R.; OLIVEIRA, R. S.; SANTOS, P. A. Conservação de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) no estado da Bahia, Brasil. **Magistra** v. 24, n. 4 p. 286-292, 2012.

CARELS, N. *Jatropha curcas*: A Review. In: KADER, J.C.; DELSENY, M. (Eds.). **Advances in Botanical Research**, v.50, p.39-86, 2009.

CELLI, G.B. Análise multivariada aplicada à tecnologia de alimentos. Apostila. Curitiba, 2009.

CHARRAD, M.; GHAZZALI, N.; BOITEAU, V.; NIKNAFS, A. (2011) NbClust: An examination of indices for determining the number of clusters. R package version 1.4. Disponível em: <http://cran.r-project.org/web/packages/NbClust/index.html>.

CUNHA, M. A. S. SALES, J. S.; MORAIS, T. A.; RAMALHO NETO, C. E. Variabilidade genética de *Ricinus communis* L revelada por marcadores RAPD. In: congresso brasileiro de mamona, 2., 2006, Aracaju. **Anais**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros. 1 CD-ROM, 2006.

Cruz, C.D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum*. v.35, n.3, p.271-276, 2013

DRUMOND, M. A.; SANTOS, C. A. F.; DE OLIVEIRA, V. R.; MARTINS, J. C.; DOS ANJOS, J. B.; EVANGELISTA, M. R. V. Agronomic performance of different genotypes of physic nut in the semi-arid zone of Pernambuco state. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 1, p. 44-47, 2010.

DURÃES, F.O.M.; LAVIOLA, B.G.; ALVES, A.A. Potential and challenges in making physic nut (*Jatropha curcas* L.) a viable biofuel crop: the Brazilian perspective. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, v.6, n.043, 2011.

FALEIRO, F.G. Marcadores genéticos-moleculares aplicados ao programa de conservação e uso de recursos genéticos. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Embrapa Cerrados. p. 102, 2007.

FAIRLESS, D. Biofuel: the little shrub that could – maybe. **Nature**, v.449, p.652-655, 2007.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: Embrapa Cenargen, 3.ed., p.220., 2008.

FRANCIS, G.; EDINGER, R.; BECKER, K. A concept for simultaneous wasteland reclamation, fuel production, and socio-economic development in degraded areas in India: need, potential and perspectives of *Jatropha* plantations. **Nature and Resources**, Paris, Forum 29, p. 12–24, 2005.

FREITAS, R. G.; MISSIO, R. F.; MATOS, F. S.; RESENDE, M. D. V.; DIAS, L. A. S. Genetic evaluation of *Jatropha curcas*: an important oilseed for biodiesel production. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, p. 1490–1498, 2011.

GOMES, S. O. **CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR EM ACESSOS DE PINHÃO MANSO (*Jatropha curcas* L.) POR MEIO DE MARCADORES ISSR**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Federal do Piauí. Teresina- PI, p. 57, 2013.

GOWER, J. C. 1971. A general coefficient of similarity and some of its properties. *Biometrics*.27:857-874.

GRATIVOL, C.; MEDEIROS, C. F. L.; HEMERLY, A. S.; FERREIRA, P. C. G. High efficiency and reliability of inter-simple sequence repeats (ISSR) markers for evaluation of genetic diversity in Brazilian cultivated *Jatropha curcas* L. accessions. **Molecular Biology Reporter**, v. 38, p. 4245–4256, 2011.

HE, W.; GUO, L.; WANG, L.; YANG, W.; TANG, L.; CHEN, F. ISSR analysis of genetic diversity of *Jatropha curcas* L. Chinese **Journal Application Environmental Biology**, v. 13, p. 466–470, 2007.

HEIFFIG, L. S.; CÂMARA, G. M. S. Potencial da cultura do pinhão- manso como fonte de matéria prima para o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel. In: CÂMARA, G. M. S.; HEIFFIG, L. S. (Org.). **Agronegócio de Plantas Oleaginosas: matérias- primas para biodiesel**. Piracicaba. ESAL, 2006.p.105-121.

KUMAR, R. S.; PARTHIBAN, K. T.; RAO, M. G. Molecular characterization of *Jatropha* genetic resources through inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. **Molecular Biology Reporter**, v. 36, p. 1951–1956, 2008.

LAVIOLA, B.G.; ALVES, A.A.; ROCHA, R.B.; DRUMOND, M.A. The importance of *Jatropha* for Brazil. In: CARELS, N.; SUJATHA, B.; BAHADUR, B. (Ed.). **Jatropha, challenges for a new energy crop. Volume 1: farming, economics and biofuel**. New York: Springer, 2013. p.71-94.

LAVIOLA, B.G.; ALVES, A.A.; GURGEL, F. de L.; ROSADO, T.B.; COSTA, R.D.; ROCHA, R.B. Estimate of genetic parameters and predicted gains with early selection of physic nut families. **Ciência e Agrotecnologia**, v.36, p.163-170, 2012.

LAVIOLA, B. G.; BHERING, L. L.; ALBRECHT, J. C.; MARQUES, S. S.; ROSADO, T. B. Caracterização morfoagronômica do banco de germoplasma de pinhão manso. In: Congresso Bras. Pl. oleaginosas, óleos, gorduras e biodiesel, 6., 2009, Montes Claros. **Anais...** Lavras: UFLA, 2009. v. 6.

MURRAY, M.; THOMPSON, W. F. Rapid isolation of high-molecular weight plant DNA. **Nucleic acid research**, v.8, p.4321-4325, 1980.

OLIVEIRA, Vanice Dias; RABBANI, Allivia Rouse Carregosa; SILVA, Ana Veruska Cruz da and LEDO, Ana da Silva. Genetic variability in physic nuts cultivated in Northeastern Brazil. **Ciencia Rural** . v.43, n.6, pp. 978-984, 2013.

OLIVEIRA, R. J. P. de; VILLELA, J. C. B.; VERÍSSIMO, M. A. A.; SILVA, S. D. A.; EICHOLZ, E. D. Distâncias genéticas entre acessos de pinhão manso da coleção de trabalho da embrapa clima temperado a partir de dados moleculares e morfológicos. In: II congresso brasileiro de pesquisas de pinhão-manso. Brasília- DF. **Anais...**2011.

RAM, S. G.; PARTHIBAN, K. T.; KUMAR, R. S.; THIRUVENGADAM, V.; PARAMATHMA, M. Genetic diversity among *Jatropha* species as revealed by RAPD markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 55, p.803–809, 2008.

R Development Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria, 2006.

REDDY, M. P.; SARLA, N.; SIDDIQ E. A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica**, v. 128, p. 9–17, 2002.

ROCHA, R. B.; RAMALHO, A. R.; TEIXEIRA, A. L.; LAVIOLA, B. G.; DA SILVA, F. C. G.; MILITAO, J. S. L. T. Selection efficiency for increasing physic nut oil content. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 47, n. 1, p. 44-50, 2012.

ROSADO, T. B.; LAVIOLA, B. G.; FARIA, D. A.; PAPPAS, M. R.; BHERING, L. L.; QUIRINO, B. F.; GRATTAPAGLIA, D. Molecular markers reveal limited genetic diversity in a large germplasm collection of the biofuelcrop *Jatropha curcas* L. in Brazil. **Crop Science**, Madison, v.50, p. 2372-2382, 2010.

SANTANA, I. B. B., OLIVEIRA, E. J., SOARES FILHO, W. S. RITZINGER, R.; AMORIM, E. P.; COSTA, M. A. P. C.; MOREIRA, R. F. C. et al. Variabilidade genética entre acessos de Umbu-Cajazeira mediante análise de marcadores ISSR. **Revista Brasileira de Fruticultura** [online]. 2011, vol.33, n.3, pp. 868-876. Epub Sep 02, 2011.

SATURNINO, H. M. et al. Cultura do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 229, p. 44-78, 2005.

SOARES, B. O. **Diversidade Genética de Genótipos de Pinhão manso por meio de RAPD e ISSR**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Estadual de Montes Claros- Unimontes. Janaúba- MG, p. 54, 2010.

SOUZA, D. A. SOUZA, D. A.; MOREIRA, G. B. R ; LIBRELON, S. S ; GUIMARÃES, J. F. R.; FERNANDES, T. P.; PEREIRA, G. V. N. ; COSTA, M.

R. Adequação da Metodologia de Marcadores ISSR para Análise Genotípica de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). In: III Fórum de Gestão, Pesquisa, Ensino e Extensão, 2009, Montes Claros. **Anais...** III Fórum de Gestão, Pesquisa, Ensino e Extensão, 2009.

STATISTICA. **Statistica for Windows v. 6.0: Computer Program Manual.** Editora StatSoft Inc. Tulsa, UK (CD-Rom), 2002.

SUNIL, N.; VARAPRASAD, K. S.; SIVARAJ, N.; SURESH KUMAR, T.; ABRAHAM, B.; PRASAD, R. B. N. Assessing *Jatropha curcas* L. germoplasme *in-situ* – A case study. **Biomass and Bioenergy**, v. 32, p. 198–202, 2008.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O pinhão manso é uma espécie oleaginosa, de fácil propagação e que pode apresentar relevante importância social e econômica para a região Nordeste.

O estudo do desempenho morfoagronômico dos 46 acessos de pinhão indicou a presença de diferenças significativas através análise de variância e teste de Scott & Knott para todos os caracteres de crescimento estudado, no entanto, para os caracteres relacionados com a produção de grãos, houve significância apenas para o Número médio de semente por planta. Desta forma, os acessos demonstraram-se improdutivo no ambiente em estudo, principalmente para o caráter produtividade de sementes por planta, indicando a necessidade urgente de novos cruzamentos genéticos e seleções para constituições genéticas superiores para a espécie.

A caracterização morfoagronômica dos 46 acessos estudados permitiu a formação de dois grupos distintos, no entanto a análise conjunta por meio de caracteres agrônômicos e moleculares ISSR possibilitou a formação de seis grupos, permitindo obter melhor conhecimento da divergência genética dos acessos, podendo acelerar os resultados no programa de melhoramento e na seleção de acessos superiores no BAG da UFRB/NBIO.

No entanto, as informações técnicas a respeito da cultura do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) são bastante escassas e por vezes conflitantes. Portanto, novos estudos devem ser realizados por meio de atividades de pré-melhoramento para auxiliar nos seus recursos genéticos e em programas de melhoramento visando ampliar a base genética da espécie e desenvolvimento de cultivares.