

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DIVERSIDADE FENOTÍPICA E DETERMINAÇÃO DO TEOR  
DE ÓLEO EM PINHÃO-MANSO POR ESPECTROSCOPIA NO  
INFRAVERMELHO PRÓXIMO**

**Amanda Carolina Prado de Moraes**  
**Bióloga**

**2016**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DIVERSIDADE FENOTÍPICA E DETERMINAÇÃO DO TEOR  
DE ÓLEO EM PINHÃO-MANSO POR ESPECTROSCOPIA NO  
INFRAVERMELHO PRÓXIMO**

**Amanda Carolina Prado de Moraes**

**Orientadora: Profa. Dra. Sandra Helena Unêda-Trevisoli**

**Co-orientador: Prof. Dr. Antônio Orlando Di Mauro**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas)

**2016**

M827d Moraes, Amanda Carolina Prado de  
Diversidade fenotípica e determinação do teor de óleo em pinhão manso por espectroscopia no infravermelho próximo / Amanda Carolina Prado de Moraes. -- Jaboticabal, 2016  
iv, 47 p.: il ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016  
Orientadora: Sandra Helena Unêda-Trevisoli  
Coorientador: Antônio Orlando Di Mauro  
Banca examinadora: Ivana Marino Bárbaro-Torneli, Gustavo Henrique de Almeida Teixeira  
Bibliografia

1. Análise de Agrupamento. 2. Análise de Componentes Principais.  
3. NIR. 4. *Jatropha curcas* L. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

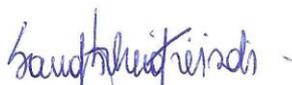
CDU 631.52:582.682.1

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

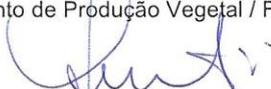
TÍTULO: DIVERSIDADE FENOTÍPICA E DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÓLEO EM  
PINHÃO-MANSO POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO

**AUTORA: AMANDA CAROLINA PRADO DE MORAES**  
**ORIENTADORA: SANDRA HELENA UNÊDA TREVISOLI**  
**CO-ORIENTADOR: ANTONIO ORLANDO DI MAURO**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em AGRONOMIA  
(GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. SANDRA HELENA UNÊDA TREVISOLI  
Departamento de Produção Vegetal / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. GUSTAVO HENRIQUE DE ALMEIDA TEIXEIRA  
Departamento de Produção Vegetal / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Pesquisadora IVANA MARINO BÁRBARO  
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - APTA / Colina/SP

Jaboticabal, 29 de abril de 2016.

## **DADOS CURRICULARES DA AUTORA**

**Amanda Carolina Prado de Moraes** - nascida em 17 de janeiro de 1991 em São Sebastião - SP - Brasil, iniciou o curso de Ciências Biológicas na Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Câmpus de Jaboticabal em fevereiro de 2009, obtendo o grau de Bióloga em agosto de 2013. Em fevereiro de 2014 ingressou no curso de mestrado em Agronomia, com Área de Concentração em Genética e Melhoramento de Plantas na Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Câmpus de Jaboticabal, como bolsista da CAPES, sob orientação da Professora Dra. Sandra Helena Unêda-Trevisoli e co-orientação do Professor Dr. Antônio Orlando Di Mauro.

*Dedico*

*À minha família, pelo amor, apoio e dedicação*

"O maior inimigo do conhecimento não é a ignorância; é a ilusão do conhecimento."

- Stephen Hawking

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por sempre guiar e iluminar minha jornada;

Aos meus pais, Carla e Célio, que são meu alicerce. Sou eternamente grata pelo amor, atenção, ensinamentos e apoio à mim dedicados;

À minha irmã, Mayra, pela paciência, companheirismo e aprendizado;

À minha orientadora, Sandra Helena Unêda-Trevisoli, pela confiança, sabedoria e orientação;

Ao professor Antônio Orlando Di Mauro, pela coorientação;

À Aretha Arcênio Pimentel Corrêa, pelo suporte e ajuda à mim concedidos;

À Fabiana Mota da Silva, pelo auxílio e contribuição ao meu trabalho;

À Fabrícia Gasparini, pelo auxílio na construção da curva de calibração deste estudo;

Ao técnico agrícola Geraldo, auxiliar de campo Rubens (Faro), ao funcionário Sr. Tião (*in memoriam*) e à estagiária Suélen Andrade pela colaboração na execução dos trabalhos de campo;

Aos meus colegas do laboratório de Biotecnologia Aplicada ao Melhoramento Genético de Plantas: Aretha, Fabiana, Elise, Éder, Bruno, Eduardo, Cleber, Wallace e Alysson, por tornarem os meus dias mais alegres e engraçados;

Às minhas amigas de Jaboticabal: Jaqueline, Tatiane e Letícia, pelo acolhimento, amizade e companhia durante o mestrado;

Aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal pelo suporte;

Aos professores que passaram ao longo do meu caminho, pelo conhecimento transmitido;

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias pela oportunidade;

À CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado;

À todos que fazem e fizeram parte da minha vida, pois com certeza contribuíram de alguma forma para meu crescimento.

## **GRATIDÃO!**

## SUMÁRIO

	Página
<b>SUMÁRIO</b> .....	i
<b>RESUMO</b> .....	iii
<b>ABSTRACT</b> .....	iv
<b>CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS</b> .....	1
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	2
2.1. Pinhão-manso .....	2
2.1.1. Descrição agronômica e cultivo .....	2
2.1.2. Pinhão-manso para produção de biodiesel .....	3
2.1.3. Aspectos sócio-econômicos .....	5
2.1.4. Melhoramento genético do pinhão-manso .....	6
2.2. Análise multivariada .....	7
2.2.1. Análise de componentes principais (PCA) .....	8
2.2.2. Análise de agrupamento .....	8
2.3. Espectroscopia do Infravermelho próximo .....	9
<b>3. REFERÊNCIAS</b> .....	11
<b>CAPÍTULO 2 – DIVERSIDADE FENOTÍPICA EM BANCO DE GERMOPLASMA <i>IN VIVO</i> DE PINHÃO-MANSO VISANDO SELEÇÃO DE GENITORES SUPERIORES POR MEIO DE ANÁLISES MULTIVARIADAS</b> .....	15
<b>RESUMO</b> .....	15
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	17
2.1. Material vegetal .....	17
2.2. Avaliação dos caracteres agronômicos .....	19
2.3. Análises estatísticas .....	20
2.3.1. Cálculo dos componentes principais (PCA) .....	20
2.3.2. Análise de agrupamento por método hierárquico .....	20
2.3.2.1. Método de Ward .....	20
2.3.3. Análise de agrupamento por método não hierárquico .....	21
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	21
3.1. Análise dos Componentes Principais (PCA) .....	21
3.2. Análise de Agrupamento .....	28

<b>4. CONCLUSÕES</b> .....	32
<b>5. REFERÊNCIAS</b> .....	33
<b>CAPITULO 3 – ANÁLISE DE ESPECTROSCOPIA POR INFRAVERMELHO PRÓXIMO VISANDO A DETERMINAÇÃO DO TEOR DE EXTRATO ETÉREO EM PINHÃO-MANSO</b> .....	36
<b>RESUMO</b> .....	36
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	37
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	38
2.1. Conjunto de calibração.....	38
2.2. Análise dos dados .....	40
2.3. Determinação dos teores de umidade e extrato etéreo pelos métodos de referência .....	40
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	41
<b>4. CONCLUSÕES</b> .....	45
<b>5. REFERÊNCIAS</b> .....	45

## DIVERSIDADE FENOTÍPICA E DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÓLEO EM PINHÃO-MANSO POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO

**RESUMO** – O objetivo do presente trabalho consistiu em caracterizar a diversidade fenotípica em genótipos de pinhão-manso através de análises multivariadas, além de desenvolver um modelo de calibração para a determinação do teor de óleo por meio da espectroscopia do infravermelho próximo (NIR) visando a seleção de genótipos com alto teor de óleo. Para a análise fenotípica, foram avaliados 11 caracteres agronômicos em 165 genótipos de pinhão-manso pertencentes ao banco de germoplasma *in vivo* localizado no Departamento de Produção Vegetal da UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. Os caracteres utilizados foram: altura da planta, diâmetro do caule, número de ramificações primárias, comprimento de fruto, largura de fruto, peso de fruto, formato de fruto, comprimento de semente, largura de semente, peso de semente e teor de óleo. Os dados foram submetidos à análise de componentes principais (PCA), análise de agrupamento pelo método hierárquico de Ward e método não hierárquico k-médias. O caráter formato de fruto foi retirado das análises multivariadas por ser de natureza qualitativa. Na PCA, os 4 CPs explicaram 71,62% da variância total. Os caracteres de maior contribuição para a discriminação dos genótipos no CP1 foram peso de semente, largura de fruto, comprimento de fruto e peso de fruto. Destacaram-se 22 genótipos promissores com potencial para serem explorados em programas de melhoramento genético. O dendrograma obtido pela análise de agrupamento de Ward e para a análise de k-médias geraram nove grupos, dos quais 5 agruparam genótipos com características vantajosas. As análises multivariadas permitiram a caracterização dos genótipos, possibilitando a seleção para muitos caracteres avaliados e a indicação de estratégias de ganhos com a seleção, para programas de melhoramento genético. Para a construção da curva de calibração e validação para teor de óleo, foram utilizadas sementes de 174 plantas, que tiveram o óleo extraído pelo método "Soxhlet" para obtenção dos valores de referência, que foram entre 50,27% a 63,21% (m/m) de óleo. Os espectros foram coletados das sementes sem tegumento, intactas, por acessório de rotação, por meio da espectroscopia por infravermelho próximo (NIR) em equipamento modelo Tango, Bruker. Cada espectro foi retirado com uma média de 64 scans com resolução de  $16\text{ cm}^{-1}$ . As regiões espectrais selecionadas para a curva de calibração foram de  $8992$  a  $7424\text{ cm}^{-1}$  e  $5336$  a  $4928\text{ cm}^{-1}$ . Os coeficientes de correlação ( $R^2$ ) da curva construída foram de 73,23% para calibração e de 70,79% para validação, sendo o erro quadrado médio de calibração (RMSEC) de 1,35 e o erro quadrado médio de validação cruzada (RMSECV) de 1,40 entre os dados obtidos pelo método de referência e pelo NIR. Os resultados indicaram que o teor de óleo da espécie *Jatropha curcas* L. pode ser estimado por NIR, e o método de referência utilizado foi satisfatório, apresentando boa correlação com a informação espectral, tornando a curva construída confiável. Contudo, futuramente é necessária a adição de novos valores para a melhoria da sua robustez e amplitude.

**Palavras-chave:** análise de agrupamento, análise de componentes principais, NIR, *Jatropha curcas* L.

## PHENOTYPIC DIVERSITY AND DETERMINATION OF OIL CONTENT IN JATROPHA BY NEAR INFRARED SPECTROSCOPY

**ABSTRACT** – The purpose of this study was to characterize the phenotypic diversity in *Jatropha* genotypes by multivariate analysis, and developing a calibration model for determination oil content by Near-infrared spectroscopy (NIR) in order to select genotypes with high oil content. For the phenotypic analysis, 11 agronomic characters were evaluated in 165 genotypes of *Jatropha* belonging to the germplasm bank in vivo located in the Department of Plant Production UNESP / FCAV, Jaboticabal, SP. The characters were: plant height, stem diameter, number of primary branches, fruit length, fruit width, fruit weight, fruit shape, seed length, seed width, seed weight and oil content. The data were submitted to principal component analysis (PCA), cluster analysis by the hierarchical method of Ward and non- hierarchical method of k-means. The character fruit shape was removed from multivariate analysis for being qualitative. In PCA, the 4 PCs explained 71.62% of the total variance. The greatest contribution of the characters to discriminate the genotypes in PC1 were seed weight, fruit width, fruit length and fruit weight. They highlighted 22 promising genotypes with potential to be exploited in breeding programs. The dendrogram obtained by Ward cluster analysis and the k-means analysis generated nine groups, 5 of which grouped genotypes with advantageous features. Multivariate analyzes allowed the characterization of the genotypes, allowing the selection for many traits and indicating gains strategies with selection for genetic improvement programs. For the construction of the calibration and validation curve for oil content of seeds were used 174 plants that had oil extracted by the method "Soxhlet" to obtain reference values which were between 50.27 to 63% 21% (m/m) of oil. The spectra were collected from intact seeds without husk by attachment rotation through near-infrared spectroscopy (NIR) in Tango machine model, Bruker. Each spectrum was taken with an average of 64 scans with a resolution of 16  $\text{cm}^{-1}$ . The spectral regions chosen for the calibration curve were 8992-7424  $\text{cm}^{-1}$  and 5336-4928  $\text{cm}^{-1}$ . The correlation coefficients ( $R^2$ ) of the curve constructed were 73,23% for calibration and 70,79% for validation, the calibration mean square error (RMSEC) was 1,35 and cross validation mean square error (RMSECV) was 1,40 between the data obtained by the reference method and the NIR. The results indicated that the oil content of *Jatropha curcas* L. can be estimated by NIR, and the reference method was satisfactory, with good correlation with the spectral information, making the built curve reliable. However, future addition of new value to improve their robustness and amplitude is required.

**Keywords:** cluster analysis, principal components analysis, NIR, *Jatropha curcas* L.

## CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

### 1. INTRODUÇÃO

A preocupação mundial com o meio ambiente em razão da degradação causada pela poluição, assim como a rápida diminuição das reservas de combustíveis fósseis e o consequente aumento no preço do petróleo, levou à exploração de óleos vegetais visando a produção de combustíveis alternativos.

Diante deste cenário, no Brasil foi aprovada a Lei nº 11.097 em 13 de janeiro de 2005, a qual introduziu o biodiesel na matriz energética definindo-o como um biocombustível renovável derivado de biomassa, cujo uso objetiva a substituição parcial ou total dos combustíveis fósseis (SEBRAE, 2008).

Considerando a dimensão continental do Brasil e sua diversidade de clima e solo, calcula-se que existam mais de 200 espécies de oleaginosas com potencial para produção de biodiesel e neste contexto, uma espécie que vem ganhando destaque é o pinhão-manso (BELTRÃO; CARTAXO, 2006).

O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie oleaginosa, arbustiva, perene, pertencente à família Euphorbiaceae. Dentre as vantagens desta planta para produção de biodiesel, estão a alta produtividade de óleo, baixo custo de produção e resistência ao estresse hídrico (EMBRAPA, 2006), além disso, apresenta boa conservação da semente colhida, podendo ser armazenada por longos períodos sem os inconvenientes da deterioração do óleo (PURCINO; DRUMOND, 1986).

Por ser considerada uma espécie ainda em fase de domesticação, não existem cultivares definidas, portanto, é de extrema importância a escolha e a caracterização de acessos promissores de pinhão-manso a fim de se iniciar um programa de melhoramento genético (PAZETO, 2013).

Dentre os métodos mais utilizados e vantajosos para caracterizar e selecionar genótipos promissores de uma espécie vegetal estão as análises estatísticas multivariadas. As informações obtidas por estas análises permitem avaliações do material genético sobre um conjunto de características relativas aos genótipos em estudo, facilitando assim, a seleção de genótipos promissores e avaliação da divergência genética (OLIVEIRA, 1989).

A principal característica do pinhão-manso é o teor de óleo presente em suas sementes, sendo este portanto o caráter mais visado nos genótipos, para comporem

programas de melhoramento. Uma das técnicas utilizadas para a determinação do teor de óleo e outros componentes de uma espécie vegetal, é a espectroscopia no infravermelho próximo (Near-infrared spectroscopy), técnica vantajosa por ser eficiente, rápida e não destrutiva, sendo assim diferente dos outros métodos empregados.

Sendo assim, o objetivo do presente trabalho consistiu em caracterizar a diversidade fenotípica em genótipos de pinhão-manso, além de construir uma curva de calibração por espectroscopia do infravermelho próximo (NIR) para determinação do teor de óleo visando a seleção de genótipos com alto teor de óleo para futuros programas de melhoramento genético.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Pinhão-manso**

#### **2.1.1. Descrição agronômica e cultivo**

A origem do pinhão-manso é bastante controversa, porém, acredita-se que este seja originário da América Central, contudo, se desenvolve espontaneamente em diversas regiões do Brasil (ROSADO et al., 2010).

O gênero *Jatropha* apresenta polinização entomófila (SATURNINO et al., 2005), aumentando a probabilidade de ocorrência de variabilidade genética dentro das espécies. A espécie *Jatropha curcas* L. é arbustiva, alcança de dois a cinco metros de altura, em média produz frutos com três sementes de 2 cm de comprimento, por 11 mm de largura e 9 mm de espessura, oblongas e pretas. Suas folhas jovens são avermelhadas, se tornando verde-escuras quando adultas, as quais possuem de três a cinco lóbulos, pecioladas, alternas, com nervuras esbranquiçadas e salientes na face inferior da lâmina foliar, suas flores são monóicas, pequenas e amarelo-esverdeadas. É uma cultura perene e suas árvores duram aproximadamente 35 anos (DRUMMOND et al., 1984).

O diâmetro do seu tronco é de aproximadamente 20 cm, as raízes são curtas e pouco ramificadas, caule liso, de lenho pouco resistente e medula desenvolvida; floema com longos canais que se estendem até as raízes, onde circula o látex. O tronco é dividido desde a base, em compridos ramos, com numerosas cicatrizes produzidas pela queda das folhas na estação seca, as quais ressurgem logo após as primeiras chuvas

(DUKE, 1983; HELLER, 1996; SWOT, 2002; ARRUDA et al., 2004; SATURNINO et al., 2005). Nos estádios iniciais o fruto é verde, tornando-se amarelo durante o processo de maturação. No final deste processo, o fruto possui cor de castanho a preto (PEIXOTO, 1973).

Dependendo do espaçamento em que for plantado, que geralmente é de 4 x 3 m ou 4 x 4 m, sua produtividade pode passar dos 6000 kg.ha<sup>-1</sup> de sementes, produzindo mais de 2000 kg.ha<sup>-1</sup> de óleo, segundo Laviola e Dias (2008). Ainda, com o melhoramento genético e o aprimoramento do sistema de produção, o pinhão-manso poderia produzir acima de 4000 kg.ha<sup>-1</sup> de óleo.

O pinhão-manso pode ser propagado por sementes ou por estaquia, no entanto a escolha do melhor método deverá ser de acordo com a finalidade para o qual será utilizado. Em cultivos comerciais, com fins de produção de óleo vegetal, recomenda-se o uso de sementes, por gerar plantas mais vigorosas e de maior longevidade, entre 30 e 50 anos (DUKE, 1983; HELLER, 1996; ARRUDA et al., 2004; SATURNINO et al., 2005). Entretanto, o plantio por estacas é preferido pelos agricultores em razão da sua simplicidade e economia.

De acordo com Arruda et al. (2004), a espécie apresenta crescimento mais rápido em regiões de clima quente, podendo seu cultivo ser interessante como uma alternativa no semiárido nordestino, uma vez que esta cultura é viável para pequenas propriedades rurais, possuindo baixo custo de produção e alta produtividade, sendo mais uma fonte de renda e empregos para a região.

### **2.1.2. Pinhão-manso para produção de biodiesel**

Há muitos anos, a população mundial está sofrendo as consequências drásticas que a destruição do meio ambiente tem causado ao planeta, como por exemplo o aquecimento da atmosfera provocado pelo efeito estufa. Assim, os biocombustíveis foram propostos com o objetivo principal de reduzir as emissões de dióxido de carbono no meio ambiente.

Na perspectiva da busca de alternativas ao óleo diesel, destaca-se o biodiesel, sendo um óleo combustível composto por um mono-alquil éster de ácidos de cadeia longa derivado de fontes renováveis, como óleos vegetais e gorduras animais (FERRARI; OLIVEIRA; SCABIO, 2005; REEFAT et al., 2008).

De acordo com Sluzz e Machado (2006), para a produção de bicombustíveis devem-se levar em consideração aspectos industriais, econômicos, ambientais e sociais. Por isso, é importante o aproveitamento das potencialidades e características específicas de cada região brasileira para produção do combustível alternativo. As motivações para a produção e uso de biodiesel são inúmeras, contudo, os benefícios ambientais e sociais destacam-se como os mais importantes (AMORIM, 2005).

Uma forma de reduzir os custos da produção de biodiesel é a utilização de matéria-prima mais acessível contendo ácidos graxos, tais como óleos não comestíveis, gorduras animais, óleo de resíduos de alimentos e produtos provenientes da refinação de óleos vegetais (VELJKOVIC' et al., 2006). Para tanto, os óleos vegetais não comestíveis, produzidos principalmente por árvores e arbustos que produzem sementes, são excelente alternativa. Dentre estas espécies arbustivas, o pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), que cresce em climas tropicais e subtropicais, ganha destaque por não ser utilizada para fins alimentícios (OPENSHAW, 2000).

A fim de identificar matérias-primas para produção de biodiesel, o Governo de Moçambique, primeiro país Africano a desenvolver um plano nacional para biocombustíveis, constatou que o pinhão-manso é uma fonte promissora, apesar das tecnologias desta espécie ainda serem muito incipientes (ZÍLIO et al., 2008).

A preferência por espécies que não são produzidas para a indústria alimentícia, é baseada na previsão de que haveriam desequilíbrios na relação oferta/demanda de óleos alimentícios devido ao crescimento da população e às causas do aquecimento global, provocando sérias consequências sociais (PAZETO, 2013).

A produção de biodiesel a partir de fontes vegetais alternativas, como o pinhão-manso, propõe como uma das vantagens o uso mais eficiente da terra quando equiparado com o plantio de outras oleaginosas, como a canola. Dessa maneira, a possibilidade de utilização de áreas degradadas para o plantio dessas espécies e a inclusão do pequeno produtor rural na cadeia de produção do biodiesel, diminuindo assim as desigualdades pelo desenvolvimento socioeconômico regional, constituem importantes fatores que aumentam o interesse na produção do biodiesel utilizando uma maior diversidade de fontes vegetais (ROMERO, 2013).

Além das vantagens socioeconômicas, o óleo de pinhão-manso também atende às demandas ambientais pelo fato de reduzir as emissões de CO<sub>2</sub> e conter enxofre em valores inexpressivos, não formando dióxido de enxofre, que provoca a chuva ácida (ACKON; ERTEL, 2005). Para o produtor e o consumidor também é vantajoso, pois seu

custo de produção é o menor comparado às demais culturas produtoras de óleo, e no mercado, o preço estimado é aproximadamente o preço do litro do diesel (MCT, 2006).

Apesar de todas as vantagens que a espécie apresenta, existem inúmeros desafios técnicos e científicos para a introdução do pinhão-manso na matriz energética de biocombustíveis no Brasil, como a necessidade de conhecimentos científicos que fundamentem e forneçam base genética aos descritores botânicos, melhoramento e sistemas de produção; registro de cultivares (RNC) e exploração comercial; além de melhoria na qualidade do óleo vegetal e aproveitamento da torta, em razão da presença de fatores antinutricionais, alergênicos e tóxicos (DURÃES e LAVIOLA, 2009).

### **2.1.3. Aspectos sócio-econômicos**

Além de ser uma alternativa interessante para a produção de biodiesel, o óleo das sementes de pinhão-manso, assim como outras partes da planta, já são utilizados por muitas pessoas em várias regiões do mundo, para diversas finalidades.

O óleo, bem como a torta derivada da extração do óleo, apresenta toxicidade principalmente devido à presença de ésteres de forbol, no entanto, também possui inibidores de tripsina, lectinas, saponinas e fitatos (MAKKAR, et al., 1997). Ao mesmo tempo, a torta do pinhão-manso é bastante rica em nitrogênio e nutrientes, podendo ser utilizada como adubo orgânico ou na alimentação animal, após o tratamento adequado (BECKER; MAKKAR, 1998).

A planta pode crescer e sobreviver com poucos cuidados em terras marginais, com pouca fertilidade, além de ser de fácil propagação. Seu cultivo permite o uso de culturas anuais alimentícias em consórcio, além de melhorias ambientais, como conservação do solo, pois por ser uma cultura perene, o cobre com uma camada de matéria seca, reduzindo, assim, a erosão e a perda de água por evaporação, evitando enxurradas e enriquecendo o solo com matéria orgânica decomposta (PEIXOTO, 1973).

Na medicina fitoterápica, o látex da planta pode ser utilizado como cicatrizante e purgante, e as raízes são consideradas diuréticas. A planta também é utilizada para produção de sabão, iluminação através de lamparinas, geradores de eletricidade, combustível para fogões, extratos da semente são utilizados como inseticida e nematicida, e a madeira pode ser utilizada como material carburante de fornalhas, assim como as cascas dos frutos. Seu plantio é tradicionalmente utilizado como cerca-viva para pastos no norte de Minas Gerais, assim como em outros países, pois possui a vantagem

de não ocupar áreas importantes para outras culturas e pastagens (PURCINO; DRUMMOND, 1986).

#### **2.1.4. Melhoramento genético do pinhão-manso**

O plantio e as pesquisas com pinhão-manso vêm ganhando força no Brasil, México, Índia, China e países da África. Por isso, o estabelecimento de normas para o comércio de sementes da espécie é fundamental, visto que muitas das sementes e mudas comercializadas são provenientes de poucas plantações e de plantas não avaliadas quanto ao seu potencial produtivo (BRASILEIRO, 2010).

Não se conhecem ainda variedades melhoradas ou cultivares de pinhão-manso, entretanto, a maioria dos países interessados na cultura está realizando pesquisas sobre a diversidade genética dessa espécie a partir de coletas de germoplasmas, dentro de seu próprio território e ao redor do mundo, para fins carburantes, alimentares e/ou medicinais da espécie (SATURNINO et al., 2005).

No Brasil, existem programas de melhoramento da espécie em diferentes instituições de ensino, pesquisa e extensão rural, como na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA), Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), Universidade Federal do Recôncavo Baiano (UFRB), Universidade Federal de Sergipe (UFS) e Universidade Federal de Viçosa (UFV), porém ainda são necessários maiores estudos e de forma conjunta para resultar em lançamento de cultivares capazes de serem recomendadas para o agricultor.

O sucesso de todo programa de melhoramento genético depende de uma adequada variabilidade genética e avaliação de acessos divergentes com características desejáveis tais como: alta produtividade de sementes; alta taxa de flor feminina em relação à flor masculina, porte reduzido, resistência a pragas e doenças, uniformidade e precocidade de maturação, resistência/tolerância à seca, e, principalmente, alto teor e melhoramento das propriedades químicas e físicas do óleo. Em vista disso, é primordial o levantamento e estudo de informações no que se refere à diversidade do germoplasma disponível, a fim de estabelecer coleções com alta variação genética da *Jatropha curcas* (MARQUES; FERRARI, 2008).

Os caracteres quantitativos de maior interesse como maior produtividade de grãos e teor de óleo, são altamente influenciados pelo ambiente, portanto possuem baixa herdabilidade. Estes devem ser melhorados de forma gradual, ao longo de várias gerações (LAVIOLA, 2011).

Tratando-se de uma espécie alógama, o melhoramento genético do pinhão-manso pode ser realizado pelo método convencional por meio da exploração da variabilidade pré-existente ou a partir da obtenção de variabilidade por hibridações inter-específicas; indução de mutações; variação somaclonal; ou por transformação genética. Essas técnicas podem ser ferramentas importantes para sanar uma das principais dificuldades do cultivo da *Jatropha*: desuniformidade na maturação dos frutos, fato que prejudica a colheita e aumenta o custo da mão-de-obra.

## 2.2. Análise multivariada

A análise estatística multivariada é um conjunto de métodos e técnicas que utilizam as informações de todos os caracteres agronômicos na interpretação do conjunto de dados, considerando as correlações existentes entre eles. Essas técnicas facilitam a interpretação das estruturas dos dados, diminuem a perda de informação e proporcionam economia relativa de tempo e custo.

No melhoramento de plantas, após o final de uma geração é necessário selecionar aquelas plantas que irão compor a próxima geração. A seleção deve ser realizada de maneira que a próxima geração seja melhor que a anterior em relação à resposta média de um conjunto de caracteres. Neste sentido, o objetivo do melhorista é aumentar o ganho genético em um espaço mínimo de tempo. A análise de componentes principais é utilizada para converter os valores de várias características em um índice, que fornece uma base para a escolha dos futuros pais (LEDO; FERREIRA; RAMALHO, 2003).

A análise de agrupamento é uma ferramenta útil para selecionar genótipos com características desejáveis, pois ela agrupa genótipos de acordo com a semelhança ou distinção entre os mesmos, possibilitando um maior conhecimento do conjunto de dados em estudo, para futuros cruzamentos direcionados (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012).

### 2.2.1. Análise de componentes principais (PCA)

A análise de componentes principais (PCA) é uma técnica de avaliação da interdependência, ou seja, estuda as relações de um conjunto de caracteres entre si (KENDAL, 1950).

Segundo Cruz e Regazzi (1994), ela consiste em transformar um conjunto original de caracteres em outro conjunto, de dimensões equivalentes, mas com propriedades importantes de grande interesse em certos estudos.

Este método permite a redução da dimensionalidade dos pontos representativos das amostras pois, ainda que a informação estatística presente nas  $n$  variáveis originais seja a mesma dos  $n$  componentes principais, é comum obter em apenas 2 ou 3 dos primeiros componentes principais mais que 90% desta informação. Sendo assim, o gráfico da componente principal 1 *versus* o componente principal 2 fornece um cenário privilegiado, estatisticamente, para observação dos pontos no espaço  $n$ -dimensional (NETO; MOITA, 1998).

De acordo com Morrison (1981), o primeiro componente principal ( $Y_1$ ) de um conjunto de  $p$  variáveis,  $X_1, X_2, \dots, X_p$ , contidas no vetor  $X' = (X_1, X_2, \dots, X_p)$  como a combinação linear:  $Y_1 = b_{11}X_1 + b_{21}X_2 + \dots + b_{p1}X_p = b'1X$  cujos coeficientes  $b_{i1}$  são elementos do vetor característico  $b_1$ , associado à maior raiz característica da matriz de covariância amostral,  $S$ , das variáveis  $X_i$ 's. Por sua vez, o segundo componente principal ( $Y_2$ ) estará associado à segunda maior raiz característica e, assim sucessivamente, até que toda a variância tenha sido explicada. Os autovalores (ou raízes características) ordenados são as variâncias amostrais dos componentes principais. O primeiro componente também é definido como o de maior importância, em razão de reter a maior parte da variação total encontrada nos dados originais.

O conhecimento da técnica dos componentes principais é importante, pois segundo Souza (1989), constitui um procedimento básico do qual derivam vários outros métodos de análise de dados multivariados, como por exemplo, análise de agrupamento ou "cluster analysis".

### 2.2.2. Análise de agrupamento

A análise de agrupamento tem por finalidade reunir, por algum critério de classificação, qualquer tipo de unidade amostral em vários grupos, de tal forma que exista

homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre grupos. Esta técnica é muito utilizada para fins de melhoramento genético, como estudos de divergência e evolutivos (BUSSAB; MIAZAKI; ANDRADE, 1990; DIAS, 1998; MEYER, 2002; CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012).

Os métodos de agrupamento podem ser hierárquicos ou não-hierárquicos. A técnica de agrupamento hierárquico interliga as amostras por suas associações, gerando um dendrograma onde as amostras semelhantes, segundo as variáveis escolhidas, são agrupadas entre si. A suposição básica de sua interpretação é que quanto menor a distância entre os pontos, maior a semelhança entre as amostras. Os dendrogramas são particularmente úteis na visualização de semelhanças entre amostras ou objetos representados por pontos em espaço com dimensão maior do que três, onde a representação de gráficos convencionais não é possível (NETO; MOITA, 1998).

Existem várias formas de representar esta estrutura de agrupamento, tais como: o método do vizinho mais próximo, o método do vizinho mais distante, método UPGMA, método de Ward, dentre outros (CRUZ; REGAZZI, 2001).

No método de Ward, a distância entre dois grupos é definida como a soma de quadrados entre os dois grupos feita sobre todas as variáveis. Em cada estágio do procedimento de agrupamento, a soma interna de quadrados é minimizada sobre todas as partições que podem ser obtidas pela combinação de dois grupos do estágio anterior. Este método tende a combinar grupos com um pequeno número de observações e também tende a produzir grupos com aproximadamente o mesmo número de observações (FERRAUDO, 2014).

Dentre os métodos não-hierárquicos, um dos mais utilizados é o k-means, que classifica os objetos em um número predefinido de grupos. A medida de similaridade usada entre os vetores de médias dos grupos pode levar à diferentes formações quanto à composição e ao número de objetos dentro de cada grupo. Deste modo, a escolha dessa medida deve observar critérios, sendo a distância euclidiana um dos mais utilizados (HAIR et al., 2009).

### **2.3. Espectroscopia do Infravermelho próximo**

Para que seja possível fazer seleção de genótipos de pinhão-mansinho a partir do teor de óleo, é necessário o desenvolvimento de uma técnica que permita conhecer o teor de óleo das sementes de forma rápida e não-destrutiva, para que essas sementes possam

ser utilizadas para outros estudos genéticos, não sendo possível com análises baseadas em métodos de extração sólido-líquido, que são inviáveis devido ao custo, tempo e principalmente, por serem destrutivas (CORRÊA, 2014).

A espectrometria do infravermelho próximo (NIR) é um método não-destrutivo que pode ser utilizado para este fim. A técnica consiste basicamente na medição do comprimento de onda e intensidade da absorção de luz infravermelha próxima da amostra. O Infravermelho próximo corresponde a região posterior à do visível, compreende os comprimentos de onda de 750 a 2.500 nm, com números de onda de 13300 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente (PASQUINI, 2003).

A espectroscopia NIR (Near Infra Red) objetiva principalmente a obtenção de informações qualitativas ou quantitativas de uma amostra, por meio da interação das ondas eletromagnéticas do infravermelho com os constituintes da amostra. De maneira geral, as ocorrências espectrais na região NIR provêm de ligações em que participam o hidrogênio, o que torna a técnica útil para a determinação de compostos orgânicos contendo principalmente ligações C-H, O-H, N-H e S-H, sem que haja necessidade de pré-tratamento da amostra (PASQUINI, 2003).

Pode ser útil na avaliação de amostras que apresentem alto teor de umidade, ainda que haja baixa penetração da radiação em medidas de refletância das amostras (DRENNEN; KRAEMER; LADDER, 1991). Para compensar a baixa intensidade das absorções, esta região espectral possui fontes de alta intensidade e de detectores de excelente sensibilidade, que contribuem para o aumento da razão sinal/ruído de medidas nela efetuadas. Entretanto, o sucesso desta técnica está na etapa de calibração, que dependerá muito da disponibilidade de padrões certificados e de amostras de referência.

O processo de calibração é composto por duas etapas: a descritiva, que usa concentrações conhecidas para construir um modelo que relaciona a grandeza medida, com a concentração da espécie de interesse; e a preditiva, a qual utiliza o modelo para calcular concentrações de novas amostras, a partir dos sinais analíticos mensurados por estas (PIMENTEL; NETO, 1996).

As principais vantagens oferecidas pela espectroscopia NIR são: possibilitar determinações sem pré-tratamento na amostra; possibilitar a obtenção de resultados rapidamente; verificar a autenticidade de amostras existentes independentemente de suas formas (pasta, líquida ou sólida) e teores; e principalmente por ser uma análise não-destrutiva, permitindo a utilização dessas mesmas amostras para outras análises (NUNES, 2008).

### 3. REFERÊNCIAS

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.

AMORIM, P. Q. R. **Perspectiva histórica da cadeia da mamona e a introdução da produção de biodiesel no semi-árido brasileiro sob o enfoque da teoria dos custos de transação.** 2005. 95p. Monografia (Bacharel em Ciências Econômicas)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

ARRUDA, F. P.; NAPOLEÃO E. M. B.; ANDRADE A. P.; PEREIRA W. E.; SEVERINO, L. S. 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.

BECKER, K.; MAKKAR, H.P.S. *Jatropha curcas*: a potential source for tomorrow's oil and biodiesel. **Lipid Technology**, v. 20, n. 5, p. 104-107, 1998.

BELTRÃO, N. E. M.; CARTAXO, W. V. Considerações gerais sobre o pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) e a necessidade urgente de pesquisas, desenvolvimento e inovações tecnológicas para esta planta nas condições brasileiras. 3º Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Gorduras e Biodiesel, 3., 2006, Varginha. **Anais...** Varginha, 2006.

BRASILEIRO, B. P. **Conservação e melhoramento genético do pinhão-manso(*Jatropha curcas* L.).** 2010. 91 f. Dissertação, Mestrado em Recursos Genéticos e Vegetais, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2010.

BUSSAB, W. de O.; MIAZAKI, E. S.; ANDRADE, D. F. **Introdução à análise de agrupamentos.** São Paulo: Associação Brasileira de Estatística, 1990. 105 p.

CORRÊA, A. A. **Abordagem multivariada, perfil composicional e construção de curva de calibração para predição do teor de óleo em *jatropha curcas* L.** 2014. 57 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Genética e Melhoramento de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2014.

CRUZ, C. D.& REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** Viçosa, UFV, 1994. 394 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicado no melhoramento genético.** 2ª ed.rev. Viçosa, UFV, 2001. 390 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** 4. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2012. v. 1, 514 p.

DIAS, L. A. S. Análises multidimensionais. In: ALFENAS, A. C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins:** fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos. Viçosa: UFV, 1998. 574 p.

DRENNEN, J. K.; KRAEMER, E. G.; LADDER, R. A..Advances and perspectives in Near Infrared Spectrophotometry, CRC-Critical Ver. In **Anais...Chem.**, 22, 443-475, 1991.

DURÃES, F. O.; LAVIOLA, B. **Pinhão-Manso: matéria prima potencial para produção de biodiesel no Brasil.** 2009. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/artigos/2009/ADM-1%20Pinhao-manso%20%20materiaprimary%20potencial%20para%20producao%20de%20biodiesel%20no%20Brasil.doc/view>> Acessado em: 20/10/2015. 5 p., 2009.

DRUMMOND, O. A.; PURCINO, A. A. C.; CUNHA, L. H. S.; VELOSO, J. M. **Cultura do pinhão-manso.** Belo Horizonte: EPAMIG, 1984. n. 131, 6 p.

DUKE, J. A. **Handbook of energy crops.** 1983. Disponível em <[http://C:\WINDOWS\TEMP\purdue\\_university.htm](http://C:\WINDOWS\TEMP\purdue_university.htm)>. Acesso em: 20 de outubro de 2015.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Alerta sobre o plantio de pinhão-manso no Brasil.** Campina Grande: Embrapa, 2006.

FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; SCABIO, A. Biodiesel de soja - taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n.1, p. 19-23, 2005.

FERRAUDO, A. S. **Técnicas de análise multivariada – uma introdução.** Apostila, 2014. 72 p.

HAIR, J. F.; BLACK, W.; BABIN, B.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L. **Análise Multivariada de dados.** Editora Bookman, Porto Alegre, 6ª ed., 2009. p. 688.

HELLER, J. **Physic nut. *Jatropha curcas* L.: promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops.** 1 ed.Roma: IPGRI, 1996, 66 p.

KENDALL, M. G. **Factor analysis as a statistical techniques.** J. R. Statist. Soc., B, 22: 60-73, 1950.

LAVIOLA, B. G. **Diretrizes para o melhoramento de pinhão-manso visando a produção de biocombustíveis.** 2011. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/artigos/2010/diretrizes-para-o-melhoramento-de-pinhao-manso-visando-a-producao-de-biocombustiveis/>> Acesso em: 10 ago. 2015.

LAVIOLA, B. G.; DIAS, L. A. S. Teor e acúmulo de nutrientes em folhas e frutos de pinhão-manso. **Ver. Brasileira de Ciência do Solo.** v. 32, n. 5, Viçosa, 2008.

LEDO, C. A. da S.; FERREIRA, D. F.; RAMALHO, M. A. P. Análise multivariada para os cruzamentos dialéticos. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras, v. 27, n. 6, p.1214-1221, 2003.

MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K.; SPORER, F.; WINK, M. Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 3152-3157, 1997.

MARQUES, D. A.; FERRARI, R. A. O papel das novas biotecnologias no melhoramento genético do pinhão-manso. **Biológico**, São Paulo, v.70, n.2, p. 65-67, 2008.

MCT. Ministério de Ciência e Tecnologia. Produção de biodiesel supera expectativas. 2006. Disponível em <<http://agenciact.mct.gov.br/index.php/content/view/34345.html>>. Acesso em: 10 de setembro de 2015.

MEYER, A. S. **Comparação de coeficientes de similaridade usados em análises de agrupamentos com dados de marcadores moleculares dominantes**. 2002.106 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

MORRISON, D. F. **Multivariate statistical methods**. 2 ed . Tokyo, Mc Graw Hill, 415p, 1981.

NETO, J. M. M.; MOITA, G. C. Uma introdução à análise exploratória de dados multivariados. **Química Nova**, v. 21, n. 4, 1998.

NUNES, P. G. A. **Uma nova técnica para seleção de variáveis em calibração multivariada aplicada às espectrometrias UV-VIS e NIR**. 2008. 121 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

OLIVEIRA, E. J. de. **Análise multivariada no estudo da divergência genética entre cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 1989. 91 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1989.

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

PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications. Campinas-SP: **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14,p.198-219, 2003.

PAZETO, M. S. R. **Estudo da diversidade genética entre acessos de *Jatropha* spp. por meio de caracteres morfológicos e marcadores moleculares ISSR**. 2013. 73 f. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2013.

PEIXOTO, A. R. **Plantas oleaginosas arbóreas**. São Paulo: Nobel, 1973. 284 p.

PIMENTEL, M. F.; NETO, B. B. Calibração: Uma revisão para químicos analíticos. **Química Nova**, v. 19, n. 3, p. 268-277, 1996.

PURCINO, A. A. C.; DRUMMOND, O. A. **Pinhão-manso**. Belo Horizonte: EPAMIG, 1986. 7 p.

REEFAT, A. A.; ATTIA, N. K.; SIBAK, H. A.; EL SHELTAWY, S. T.; ELDIWANI, G. I. Production optimization and quality assessment of biodiesel from waste vegetable oil. **International Journal Environmental Science and Technology**, v. 5, n. 1, p. 75-82, 2008.

ROMERO, A. C. **Resíduos da produção de biodiesel: avaliação de moléculas bioativas e potencial de aplicação na alimentação animal**. 2013. 115 f. Tese (Doutorado em Ciências), Centro de Energia Nuclear na Agricultura - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

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

SATURNINO, H. M.; PACHECO, D. D.; KAKIDA, J.; NAGASHI, T.; GONÇALVES, N. P. Cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 229, p. 44-78, 2005.

SEBRAE. SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. **Biodiesel**. Brasília, DF: SEBRAE, 2008. Disponível em: <[http://www.storck.com.br/site\\_biodiesel/Figuras%20para%20site/Cartilha\\_Sebrae%20biodiesel.pdf](http://www.storck.com.br/site_biodiesel/Figuras%20para%20site/Cartilha_Sebrae%20biodiesel.pdf)>. Acesso em: 4 de setembro de 2015.

SLUZZ, T.; MACHADO, J. A. D. **Características das potenciais culturas matérias-primas do biodiesel e sua adoção pela agricultura familiar**. Porto Alegre: Agrener, 2006. 20 p.

SOUZA, A. L. de. **Análise multivariada para manejo de florestas naturais: alternativas de produção sustentada de madeiras para serraria**. 1989. 255 f. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1989.

SWOT. **Summary of current knowledge: an industry and market study of plant products from five trees in Southern Africa – jatropha or physic nut**. Washington, 2002. 15 p. Relatório de Projeto, Internacional Programs Washington State University, Washington, 2002.

VELJKOVIĆ, V. B.; LAKICEVIĆ, S. H.; STAMENKOVIĆ, O. S.; TODOROVIC, Z. B.; LAZIC, K. L. Biodiesel production from tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) seed oil with a high content of free fatty acids. **Fuel**, v. 85, p. 2671–2675, 2006.

ZÍLIO, J.; LIDDELL, D.; MUENDANE, C.; NOGUEIRA, A. **Avaliação dos biocombustíveis em Moçambique - Relatório final**. 2008. 515 p. Disponível em: <[https://energypedia.info/images/0/0b/PT\\_Avalia%C3%A7%C3%A3o\\_dos\\_Biocombust%C3%ADveis\\_em\\_Mo%C3%A7ambique\\_Econergy\\_International\\_Corporation%3Bet.al.pdf](https://energypedia.info/images/0/0b/PT_Avalia%C3%A7%C3%A3o_dos_Biocombust%C3%ADveis_em_Mo%C3%A7ambique_Econergy_International_Corporation%3Bet.al.pdf)>. Acesso em 20 de novembro de 2015.

## **CAPÍTULO 2 – DIVERSIDADE FENOTÍPICA EM BANCO DE GERMOPLASMA *IN VIVO* DE PINHÃO-MANSO VISANDO SELEÇÃO DE GENITORES SUPERIORES POR MEIO DE ANÁLISES MULTIVARIADAS**

**RESUMO** – O presente trabalho teve por objetivo avaliar a diversidade fenotípica para seleção dos genótipos mais divergentes e superiores de pinhão-manso para compor futuros programas de cruzamento, por meio de estratégias multivariadas. Foram avaliados 11 caracteres agronômicos em 165 genótipos de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) pertencentes ao banco de germoplasma *in vivo* do Departamento de Produção Vegetal da FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal, sendo eles: altura da planta, diâmetro do caule, número de ramificações primárias, comprimento de fruto, largura de fruto, peso de fruto, formato de fruto, comprimento de semente, largura de semente, peso de semente e teor de óleo. Foram utilizadas as análises de componentes principais, análise de agrupamento pelo método hierárquico, utilizando a distância Euclidiana, a ligação entre grupos pelo método de Ward e o método não hierárquico k-médias. O caráter formato de fruto foi retirado das análises multivariadas por ser o único de natureza qualitativa. A análise de componentes principais resultou em 4 componentes (CP), os quais explicaram 71,62% da variância total contida nas dez variáveis analisadas. As variáveis de maior contribuição para a discriminação dos genótipos no CP1 foram peso de semente, largura de fruto, comprimento de fruto e peso de fruto. Destacaram-se 22 genótipos promissores com potencial para serem explorados em programas de melhoramento genético. O dendrograma obtido pela análise de agrupamento de Ward e a análise de k-médias geraram nove grupos influenciados por todos os caracteres analisados, dos quais cinco agruparam genótipos com caracteres vantajosos para programas de melhoramento genético. Para o caráter formato de fruto, 13 genótipos apresentaram fruto no formato elipsóide lanceolado, e os demais apresentaram fruto elipsóide esférico. As análises multivariadas permitiram a caracterização dos genótipos, possibilitando a seleção para muitos caracteres avaliados e a indicação de estratégias de ganhos com a seleção, nos programas de melhoramento genético.

**Palavras-chave:** análise de agrupamento, análise de componentes principais, caracteres agronômicos, *Jatropha curcas* L.

## 1. INTRODUÇÃO

Os programas de melhoramento da cultura do pinhão-mansão são ainda muito incipientes no que refere à obtenção de genótipos melhorados e principalmente quanto à existência de genitores superiores para comporem futuras populações segregantes, visando processo de seleção.

Estudos sobre a espécie constataram que existe alta variabilidade entre acessos de pinhão-mansão (PAZETO et al., 2015; REIS et al., 2015), sendo de grande importância a exploração e caracterização desta diversidade genética para utilização em programas de melhoramento genético da espécie, visto que ainda não existem cultivares e descritores definidos.

Técnicas multivariadas são importantes ferramentas para avaliar a diversidade genética, visando a classificação de germoplasmas, ordenação das variabilidades contidas em acessos e na análise das relações genéticas entre os caracteres e o material genético existente (IQBAL et al., 2008). Dentre estas técnicas, destacam-se a análise por componentes principais (PCA), os métodos de agrupamentos hierárquicos e não-hierárquicos (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004; GONÇALVES et al., 2008).

A análise de componentes principais (PCA) é uma ferramenta vantajosa na identificação de caracteres com maior conteúdo informativo para caracterização de germoplasma, bem como para informar os caracteres que menos contribuem para a variação total disponível (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004). A análise de agrupamento tem por finalidade reunir, por algum critério de classificação, as unidades amostrais em grupos, de tal forma que exista homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre os mesmos (JOHNSON; WICHERN, 1992).

Mediante o exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a diversidade fenotípica de um banco de germoplasma *in vivo* de pinhão-mansão, visando a seleção dos genótipos divergentes e superiores, por meio de análises multivariadas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Material vegetal

Foram avaliadas 165 plantas provenientes de 50 acessos de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) procedentes de quatro Estados brasileiros: Paraíba, Pernambuco, Tocantins e São Paulo (Tabela 1). Os genótipos pertencem ao Banco de Germoplasma *in vivo* da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, situado na área experimental do Departamento de Produção Vegetal, latitude 21° 14' 05" S e longitude 48° 17' 09" W, com altitudes que variam de 615,01 m. O clima da região é do tipo mesotérmico, com verão úmido e inverno seco, temperatura média de 22 °C e umidade relativa do ar de 70,6%. O solo predominante no município é o latossolo vermelho escuro de fase arenosa e latossolo roxo.

Os frutos foram colhidos e os caracteres agronômicos avaliados no período de dezembro de 2014 à maio de 2015.

**Tabela 1** - Procedência, identificação e número de plantas utilizadas por acesso de pinhão-manso avaliados.

Acesso	Código do Acesso	Procedência	Latitude	Longitude	Nº Plantas Utilizadas
1	CNPA PM IV P1	Tocantinópolis - TO	06°19'S	47°24'W	3
2	CNPA PM II P3	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	2
3	CNPA PM II P5	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	2
4	CNPA PM II P6	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	5
5	CNPA PM II P7	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	2
6	CNPA PM II P8	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	2
7	CNPA PM II P12	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	3
8	CNPA PM II P16	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	4
9	CNPA PM II P19	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	5
10	CNPA PM II P20	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	1
11	CNPA PM II P21	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	2
12	CNPA PM II P22	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	3
13	CNPA PM II P25	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	2
14	CNPA PM II P30	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	3
15	CNPA PM XI P1	Mundo Novo - PE	07°35'S	37°11'W	3
16	CNPA PM XI P2	Mundo Novo - PE	07°35'S	37°11'W	6
17	CNPA PM XI P3	Mundo Novo - PE	07°35'S	37°11'W	5

18	CNPA PM XI P4	Mundo Novo - PE	07°35'S	37°11'W	3
19	CNPA PM VII P1	Mundo Novo - PE	07°35'S	37°11'W	2
20	CNPA PM VII P2	Mundo Novo - PE	07°35'S	37°11'W	8
21	CNPA PM VII P6	Mundo Novo - PE	07°35'S	37°11'W	5
22	CNPA PM VII P7	Mundo Novo - PE	07°35'S	37°11'W	7
23	CNPA PM IX P3	Pugmil - TO	06°24'S	37°48'W	2
24	CNPA PM IX P5	Pugmil - TO	06°24'S	37°48'W	2
25	CNPA PM IX P6	Pugmil - TO	06°24'S	37°48'W	3
26	CNPA PM IX P7	Pugmil - TO	06°24'S	37°48'W	1
27	CNPA PM IX P8	Pugmil - TO	06°24'S	37°48'W	3
28	CNPA PM VIII P1	Alagoinha - PB	06°57'S	35°32'W	9
29	CNPA PM VIII P2	Alagoinha - PB	06°57'S	35°32'W	6
30	CNPA PM VIII P4	Alagoinha - PB	06°57'S	35°32'W	6
31	CNPA PM VIII P5	Alagoinha - PB	06°57'S	35°32'W	6
32	CNPA PM VI P1	Oliveira de Fátima - TO	10°42'S	48°54'W	2
33	CNPA PM VI P2	Oliveira de Fátima - TO	10°42'S	48°54'W	3
34	CNPA PM VI P3	Oliveira de Fátima - TO	10°42'S	48°54'W	3
35	CNPA PM VI P5	Oliveira de Fátima - TO	10°42'S	48°54'W	2
36	CNPA PM VI P6	Oliveira de Fátima - TO	10°42'S	48°54'W	2
37	CNPA PM VI P7	Oliveira de Fátima - TO	10°42'S	48°54'W	3
38	CNPA PM VI P8	Oliveira de Fátima - TO	10°42'S	48°54'W	1
39	CNPA PM X P1	Marizópolis - PB	09°47'S	49°39'W	5
40	CNPA PM X P2	Marizópolis - PB	09°47'S	49°39'W	1
41	CNPA PM X P3	Marizópolis - PB	09°47'S	49°39'W	6
42	CNPA PM X P4	Marizópolis - PB	09°47'S	49°39'W	3
43	IT 1	Ituverava - SP	20°20'S	47°46'W	3
44	IT 2	Ituverava - SP	20°20'S	47°46'W	2
45	IT 3	Ituverava - SP	20°20'S	47°46'W	3
46	IT 4	Ituverava - SP	20°20'S	47°46'W	2
47	IT5	Ituverava - SP	20°20'S	47°46'W	2
48	IT7	Ituverava - SP	20°20'S	47°46'W	2
49	IT 9	Ituverava - SP	20°20'S	47°46'W	2
50	IT 10	Ituverava - SP	20°20'S	47°46'W	2

## 2.2. Avaliação dos caracteres agronômicos

Para definição dos caracteres a serem avaliados, foram utilizados como critério, alguns caracteres utilizados para mamona (*Ricinus communis* L.) (EMBRAPA ALGODÃO, 2008), pelo fato das duas espécies pertencerem à mesma família. Sendo assim, foram avaliados onze caracteres agronômicos:

- 1) Altura da planta: medida tomada desde o colo da planta até o ápice, em metros (m);
- 2) Diâmetro do caule: medido com paquímetro a 10 centímetros do nível do solo, em cm;
- 3) Número de ramificações primárias: foram observadas as ramificações primárias de cada genótipo;
- 4) Comprimento de fruto: foram avaliados os comprimentos de 10 frutos por genótipo, sendo medidos com paquímetro digital da marca ZAAS, em centímetros (cm);
- 5) Largura de fruto: foram medidas as larguras de 10 frutos por genótipo, com auxílio de paquímetro digital, em centímetros (cm);
- 6) Peso de fruto: pesou-se em balança digital 10 frutos por genótipo, em gramas (g);
- 7) Formato de fruto: foram avaliados 10 frutos por planta, sendo classificados como fruto elipsóide esférico ou elipsóide lanceolado, de acordo com Laviola et al. (2011);
- 8) Comprimento de semente: os comprimentos de 10 sementes por genótipo foram medidos com paquímetro digital, em centímetros (cm);
- 9) Largura de semente: foram medidas as larguras de 10 sementes por genótipo com auxílio de paquímetro digital, em centímetros (cm);
- 10) Peso de semente: em balança digital foram pesadas 10 sementes por genótipo, em gramas (g);

11) Teor de óleo: a extração foi realizada por meio da metodologia Soxhlet, cujo método consiste na lixiviação do óleo contido no material em análise, por ciclos de contato com determinado solvente. O processo foi realizado em duplicata para cada genótipo sendo, posteriormente, calculada a média para cada planta, em g/100 g.

Os frutos foram colhidos secos e aleatoriamente de cada planta ao longo do período citado anteriormente. Assim, as sementes e os frutos avaliados foram escolhidos aleatoriamente de cada genótipo.

Para os caracteres comprimento, largura e peso de fruto e semente, bem como teor de óleo, foram calculadas as médias dos valores tomados, para cada genótipo.

### **2.3. Análises estatísticas**

Não há delineamento experimental nas plantas avaliadas. Foram realizadas análises estatísticas de Componentes Principais e de Agrupamento para todos os caracteres, exceto para formato de fruto, que foi excluído por ser o único caráter qualitativo. Ambas as análises foram realizadas pelo software Statistica, versão 10 (STATSOFT, 2010), sendo os dados padronizados resultando em média nula e variância unitária para todas as variáveis.

#### **2.3.1. Cálculo dos componentes principais (PCA)**

A variabilidade original foi decomposta em dois autovetores (componentes principais) construídos com os autovalores da matriz de covariância. Os autovetores são combinações lineares das variáveis originais buscando maximizar a informação relevante (HAIR et al., 2009).

#### **2.3.2. Análise de agrupamento por método hierárquico**

##### **2.3.2.1. Método de Ward**

O método de Ward, procedimento também chamado de “mínima variância”, fundamenta-se nos seguintes princípios: inicialmente cada elemento é considerado como um único conglomerado. Em cada passo do algoritmo de agrupamento calcula-se a soma de quadrados dentro de cada aglomerado. Esta soma é o quadrado da distância

Euclidiana de cada elemento amostral pertencente ao conglomerado em relação ao correspondente vetor de médias do aglomerado.

### **2.3.3. Análise de agrupamento por método não hierárquico**

A análise de agrupamentos pelo método k-médias (k-means) consiste em um procedimento onde, dado um número de clusters (grupos) previamente determinado, calcula-se pontos que representam os “centros” destes clusters.

O centróide pode ser a média ou a mediana de um grupo de pontos. Em outras palavras, o objetivo do k-médias (k-means) é minimizar a distância entre cada ponto e o seu respectivo centróide (HAIR et al., 2005).

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **3.1. Análise dos Componentes Principais (PCA)**

Os quatro primeiros componentes principais explicaram 71,62% da variância contida nas dez variáveis originais, sendo que o primeiro componente principal (CP1) reteve 28,71% da variância original (Figura 1). Os principais caracteres que explicaram essa retenção da variância foram: peso de semente, largura de fruto, comprimento de fruto e peso de fruto com valores de correlações com os componentes principais de -0,824; -0,717; -0,638 e -0,886, respectivamente (Tabela 2). O segundo componente principal (CP2) reteve 20,47% da variância, explicada pelas variáveis altura da planta, comprimento de semente e teor de óleo, com correlações de -0,733; -0,725 e 0,767, respectivamente (Tabela 2). O terceiro componente principal (CP3), reteve 12,00% da variância, que foi explicada pelas variáveis diâmetro do caule e número de ramificações primárias, com correlações de -0,793 e -0,680, respectivamente (Tabela 2), enquanto que o quarto componente principal reteve 10,42% da variância, que foi explicada pelas variáveis largura de semente e comprimento de fruto, com correlações de 0,592 e -0,567, respectivamente. Foram consideradas como relevantes as cargas que apresentaram valor absoluto superior a 0,5 (Tabela 2).

Os caracteres peso de semente e teor de óleo também tiveram grande importância na análise de componentes principais em acessos de mamona (ANJANI, 2010).

De acordo com Reis et al. (2015) estudando acessos de pinhão-manso, a produção de óleo por planta apresentou coeficiente de variação de 60,00%, indicando ser um caráter com alta variabilidade fenotípica. Por outro lado, os caracteres referentes às sementes, registraram os menores coeficientes de variação, com valores abaixo de 10%.

As variáveis que apresentam mesmo sinal atuam no mesmo sentido, isto é, quando ocorre o incremento de uma variável, também ocorre da outra, e aquelas com sinais contrários atuam em sentidos opostos, ou seja, quando o valor de uma eleva, o da outra reduz. Deste modo, de acordo com as correlações indicadas na Tabela 2, constata-se que no CP1 e no CP3 as variáveis consideradas com maior poder discriminatório atuam de forma direta. No CP2, os caracteres altura da planta e comprimento de semente atuam de forma direta, porém, indiretamente ao teor de óleo. Por sua vez, no CP4, os caracteres largura de semente e comprimento de fruto atuam de forma indireta.

**Tabela 2** - Correlação entre as variáveis e os componentes principais (CP) dos genótipos de pinhão-manso para os 10 caracteres agrônômicos: altura da planta (ALT), diâmetro do caule (DC), número de ramificações primárias (RP), peso de semente (PS), largura de semente (LS), comprimento de semente (CS), largura de fruto (LF), comprimento de fruto (CF), peso de fruto (PF) e teor de óleo (TO).

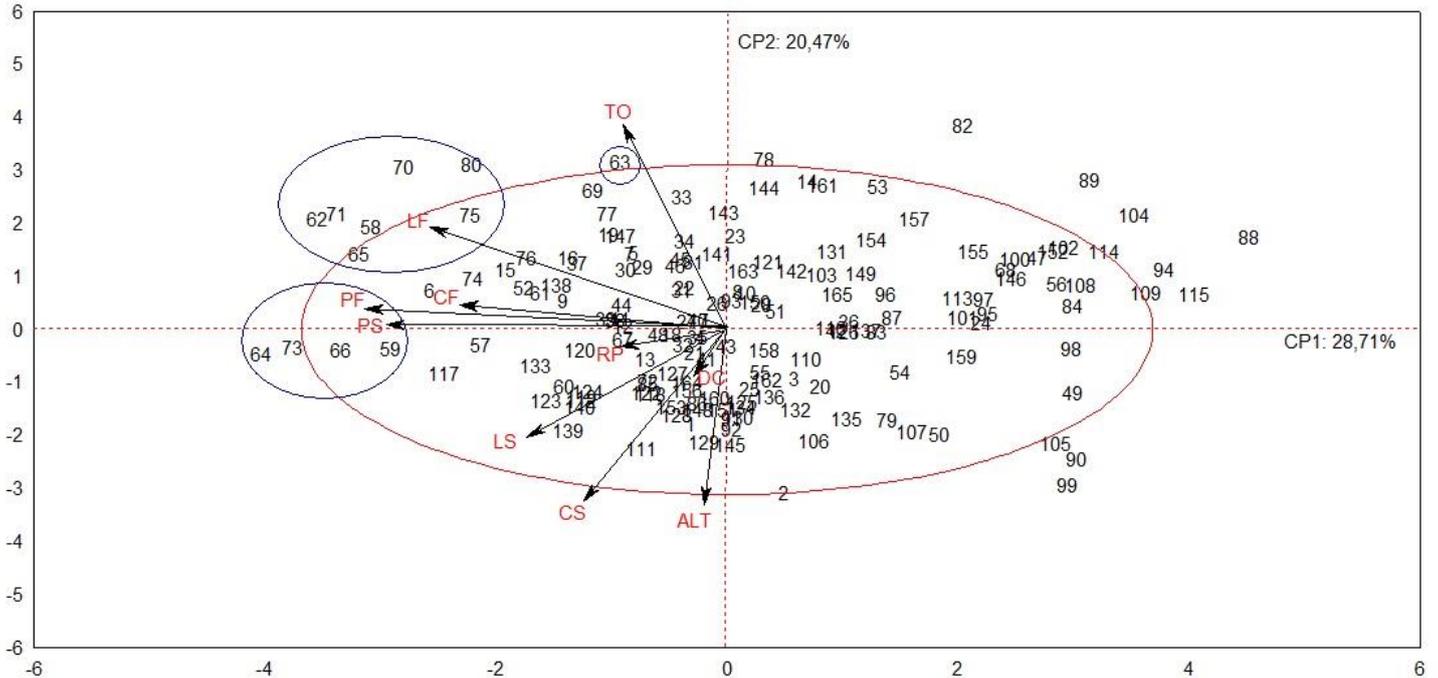
	<b>CP1</b>	<b>CP2</b>	<b>CP3</b>	<b>CP4</b>
<b>ALT</b>	-0,061	-0,733	0,081	-0,229
<b>DC</b>	-0,079	-0,216	-0,793	-0,169
<b>RP</b>	-0,236	-0,084	-0,680	0,465
<b>PS</b>	-0,824	-0,031	0,070	0,029
<b>LS</b>	-0,489	-0,437	0,219	0,592
<b>CS</b>	-0,341	-0,725	0,188	0,042
<b>LF</b>	-0,717	0,370	0,039	-0,013
<b>CF</b>	-0,638	0,078	-0,072	-0,567
<b>PF</b>	-0,886	0,072	-0,013	-0,111
<b>TO</b>	-0,246	0,767	0,075	0,239

Assim como nos resultados do presente estudo, Carvalho (2010) reporta em seu trabalho que o número de ramificações primárias foi um caráter que apresentou alta contribuição no terceiro componente principal, podendo ser a variável descartada de acordo com os critérios de Cruz e Regazzi (1997) e Pereira et al. (2003). Deste modo, a variável largura de semente também poderia ser descartada, visto que este exibiu correlação apenas no quarto componente principal. No entanto, comprimento de fruto apresentou uma correlação importante no primeiro componente principal, ao lado de outros componentes da produção, como peso de fruto e peso de sementes.

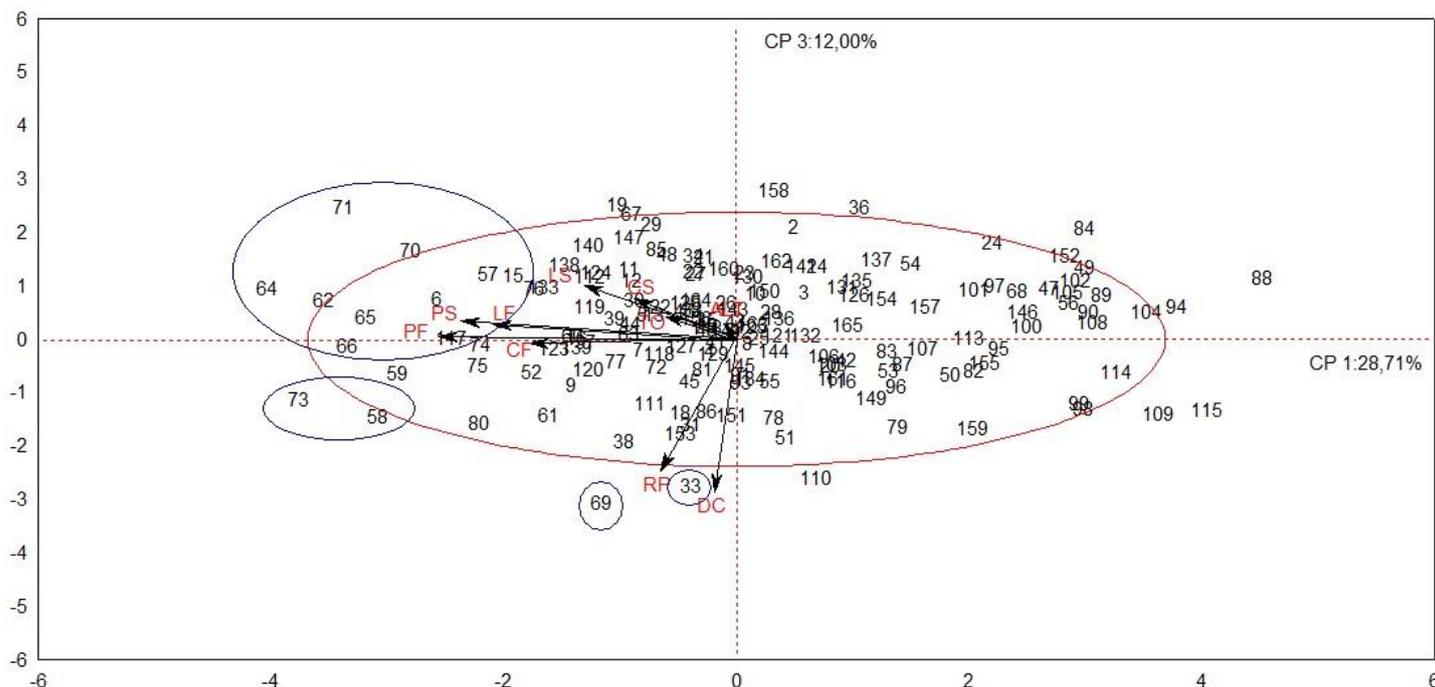
O plano bidimensional formado pelos componentes CP1 (28,71%) e CP2 (20,47%) reteve no total 49,18% da variância original. Na Figura 1 pode-se observar que os genótipos 58; 59; 62; 63; 64; 65; 66; 70; 71; 73; 75 e 80, discriminados pelas variáveis peso de semente, largura de fruto, comprimento de fruto, peso de fruto, altura da planta e teor de óleo, estão localizados à esquerda de CP2.

O plano bidimensional formado pelos componentes CP1 e CP3 (12,00%) reteve 40,71% da variância e foi caracterizado pelas variáveis peso de semente, largura de fruto, comprimento de fruto, peso de fruto, diâmetro do caule e número de ramificações primárias, discriminando os genótipos 6; 15; 33; 57; 58; 62; 64; 65; 66; 69; 70; 71; 73 e 117, localizados à esquerda de CP3 (Figura 2).

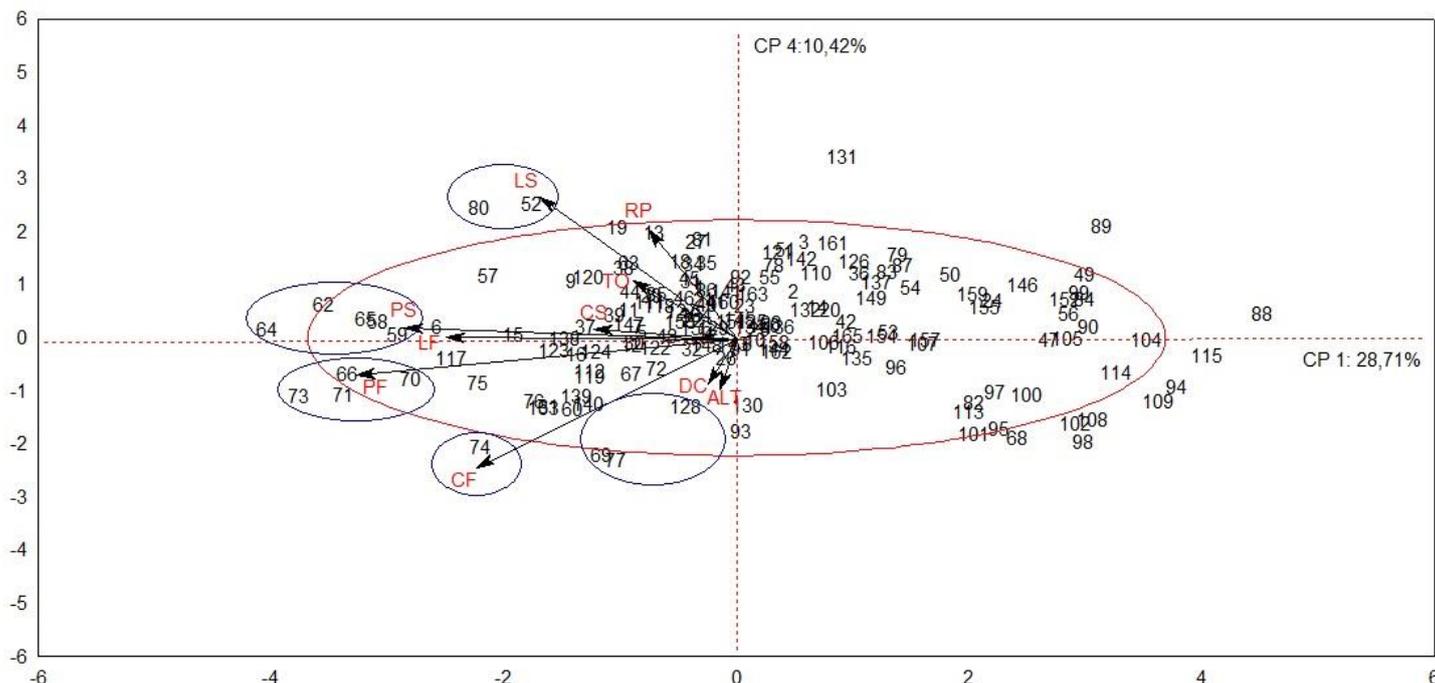
Por sua vez, O plano bidimensional formado pelos componentes CP1 e CP4 (10,42%) reteve 39,13% da variância e foi caracterizado pelas variáveis peso de semente, largura de fruto, comprimento de fruto, peso de fruto e largura de semente, discriminando os genótipos 13; 17; 19; 52; 58; 59; 62; 64; 65; 66; 69; 70; 71; 73; 74; 80 e 128, localizados à esquerda de CP4 (Figura 3).



**Figura 1.** Gráfico *biplot* com dispersão dos 165 genótipos de pinhão-mansó em função dos componentes principais CP1 x CP2 e projeção dos vetores dos caracteres: ALT: altura da planta; DC: diâmetro do caule; RP: número de ramificações primárias; PS: peso de semente; LS: largura de semente; CS: comprimento de semente; LF: largura de fruto; CF: comprimento de fruto; PF: peso de fruto; TO: teor de óleo.



**Figura 2.** Gráfico *biplot* com dispersão dos 165 genótipos de pinhão-mansão em função dos componentes principais CP1 x CP3 e projeção dos vetores dos caracteres: ALT: altura da planta; DC: diâmetro do caule; RP: número de ramificações primárias; PS: peso de semente; LS: largura de semente; CS: comprimento de semente; LF: largura de fruto; CF: comprimento de fruto; PF: peso de fruto; TO: teor de óleo.



**Figura 3.** Gráfico *biplot* com dispersão dos 165 genótipos de pinhão-mansó em função dos componentes principais CP1 x CP4 e projeção dos vetores dos caracteres: ALT: altura da planta; DC: diâmetro do caule; RP: número de ramificações primárias; PS: peso de semente; LS: largura de semente; CS: comprimento de semente; LF: largura de fruto; CF: comprimento de fruto; PF: peso de fruto; TO: teor de óleo.

Resultados semelhantes foram encontrados por Corrêa (2014) em estudo de análise de componentes principais envolvendo cinco caracteres de 56 acessos de pinhão-mansó, tendo sido observado que 74,11% da variância foi explicada pelos três primeiros componentes principais. O CP1 foi explicado pelas variáveis teor de óleo, o CP2 teve a variância explicada por comprimento de semente e o CP3 foi explicado pelo caráter diâmetro de caule. Comparando com estes resultados, no presente estudo, a variável comprimento de semente também teve alta correlação em CP2, assim como diâmetro de caule teve alta correlação em CP3.

As médias dos genótipos selecionados pela PCA (Análise de Componentes Principais) encontram-se listadas na Tabela 3.

**Tabela 3** - Médias dos genótipos de pinhão-manso selecionados por meio da análise de componentes principais para os 10 caracteres: altura de planta (ALT), diâmetro do caule (DC), número de ramificações primárias (RP), peso de semente (PS), largura de semente (LS), comprimento de semente (CS), largura de fruto (LF), comprimento de fruto (CF), peso de fruto (PF) e teor de óleo (TO).

Acesso	Genótipo	ALT (m)	DC (cm)	RP	PS (g)	LS (mm)	CS (mm)	LF (mm)	CF (mm)	PF (g)	TO (%)
21	75	3,00	21,00	4,00	0,79	10,64	17,83	23,06	30,93	3,62	60,89
20	69	2,50	28,00	5,00	0,75	10,51	16,98	21,67	34,54	3,48	57,37
19	64	3,30	18,00	4,00	0,82	11,23	19,24	23,83	30,72	3,65	58,60
21	73	3,00	28,00	4,00	0,82	11,07	18,75	23,10	32,07	3,84	56,00
19	66	3,00	27,00	3,00	0,86	11,17	18,86	23,17	30,97	3,45	56,80
19	59	3,00	26,00	4,00	0,86	11,08	18,74	22,81	29,68	3,53	56,87
20	71	2,50	12,00	2,00	0,83	10,99	18,75	23,06	33,08	3,61	60,56
20	70	2,60	16,00	2,00	0,80	10,96	17,92	23,13	31,55	3,74	62,09
19	65	3,00	18,00	4,00	0,84	11,14	17,90	23,70	30,17	3,57	58,70
19	62	2,70	16,00	4,00	0,85	11,16	18,04	23,97	30,54	3,54	59,17
6	15	2,55	16,00	3,00	0,69	11,07	18,73	23,34	29,79	3,84	56,62
18	57	3,00	15,00	4,00	0,78	11,42	18,77	22,23	29,75	3,55	58,20
3	6	3,00	15,00	4,00	0,78	11,12	18,04	23,10	29,78	3,93	56,24
22	80	2,15	26,00	5,00	0,83	11,25	17,59	22,71	28,19	3,53	62,28
18	58	2,50	30,00	4,00	0,80	11,16	18,38	22,76	31,25	3,65	62,61
11	33	2,60	31,00	5,00	0,68	10,66	17,83	22,77	29,10	3,26	61,94
19	63	2,15	12,00	5,00	0,76	11,00	17,36	22,87	29,95	3,22	57,50
32	117	3,20	21,00	4,00	0,75	11,06	18,77	23,49	29,92	3,65	54,01
7	17	3,20	22,00	3,00	0,71	11,19	17,82	22,40	29,08	3,24	57,17
21	74	2,95	18,00	4,00	0,78	11,48	18,58	22,66	33,13	3,52	57,38
16	52	2,65	18,00	6,00	0,76	11,23	18,62	22,94	28,28	3,30	58,82
16	53	2,60	19,00	4,00	0,68	10,45	17,49	22,49	28,41	2,90	59,00
36	128	3,20	24,00	2,00	0,75	11,10	18,76	22,20	30,26	3,02	52,98

Ao observar, na Tabela 3, os valores dos caracteres agrônômicos de cada genótipo selecionado pela análise de componentes principais, verifica-se que os genótipos 63 e 53 foram selecionados apenas pelo alto teor de óleo presente em suas sementes, os genótipos 75 e 15 pelos altos valores do caráter largura de frutos, o genótipo 69 por apresentar o maior número de ramificações primárias e alto valor para diâmetro do caule, os genótipos 64; 66 e 59 foram selecionados por apresentarem maior peso de sementes e de frutos, o genótipo 73 pelo elevado peso de sementes, comprimento de frutos e peso de frutos. Os genótipos 71; 65; 62 e 117 possuem maior peso de sementes, largura de frutos e peso de frutos, o 57 apresenta elevado peso de sementes, o genótipo 6 contém elevado peso de semente bem como peso de frutos, o 58 possui valores superiores para largura, comprimento e peso de fruto. Por sua vez, o genótipo 33 foi selecionado por possuir alto valor para o caráter diâmetro do caule.

Os genótipos 17 e 128 foram selecionados por apresentarem árvores mais altas e maiores diâmetro do caule, o genótipo 52 por apresentar alto valor para largura de semente e o 74 por ter o maior comprimento de fruto.

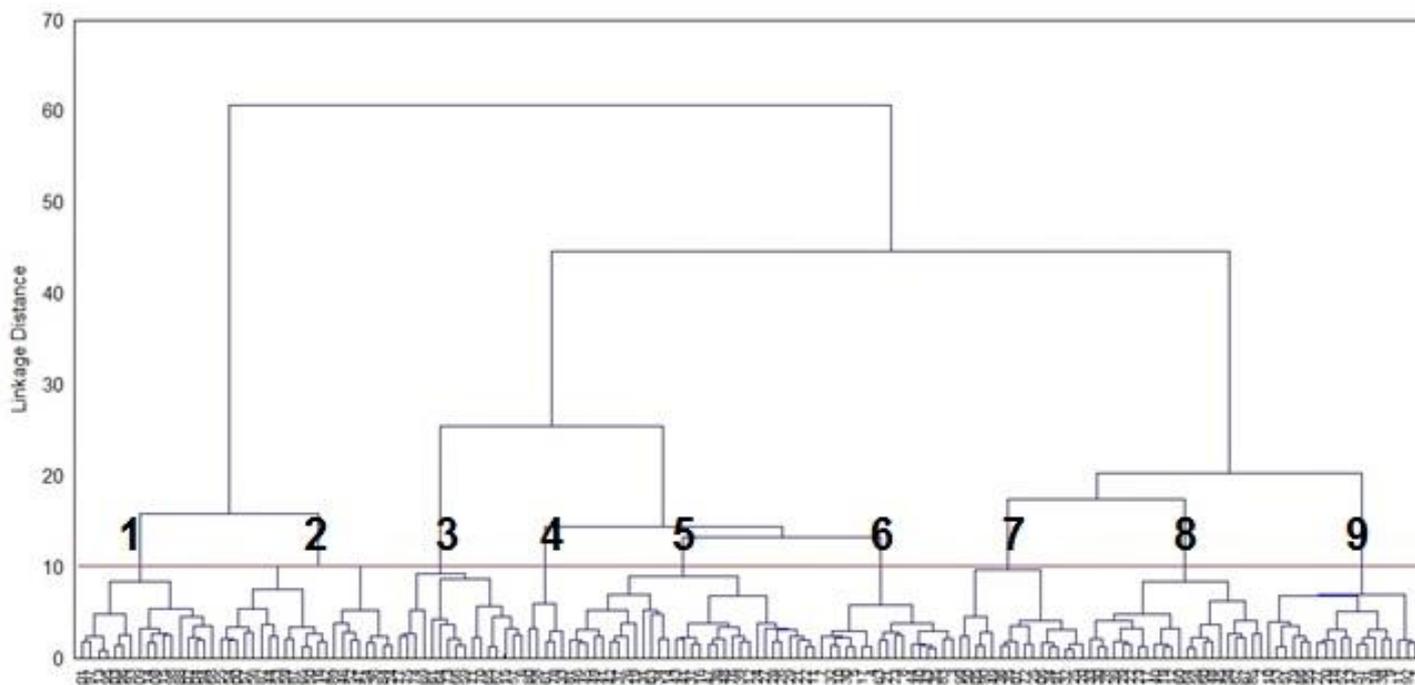
Laviola et al. (2011) constataram que os caracteres diâmetro do caule e altura da planta contribuíram com 12 e 11%, respectivamente, para a diversidade genética em acessos de *Jatropha curcas*. Considerando o pinhão-manso uma planta arbustiva que pode atingir mais de 6 metros de altura (DIAS et al., 2007), é interessante a seleção de genótipos com menor porte a fim de facilitar o processo de colheita. Assim, aqueles genótipos que apresentam árvores mais altas, baixo teor de óleo e baixa produtividade não são muito viáveis para fins comerciais.

Os genótipos 70 e 80 destacaram-se dos demais como os mais promissores e com potencial para serem utilizados em programas de melhoramento genético vegetal, pois possuem maior peso de sementes, peso de frutos, largura de fruto, teor de óleo e ainda valores baixos para altura da planta, fato desejável do ponto de vista de cultivo, conforme mencionado anteriormente. Em um estudo com sementes de genótipos de pinhão-manso procedentes do Suriname, Etiópia, Nigéria, Brasil e China (VAKNIN et al., 2011), os autores encontraram teores entre 39 e 62% de óleo, ao passo que, no presente trabalho, foram obtidos valores entre 50,81 e 62,89%.

Em um outro estudo, foi observada uma correlação positiva entre maior teor de óleo e rendimento de grãos em acessos de pinhão-manso, sendo uma característica bastante favorável para o melhoramento genético da espécie (GINWAL et al., 2004).

### **3.2. Análise de Agrupamento**

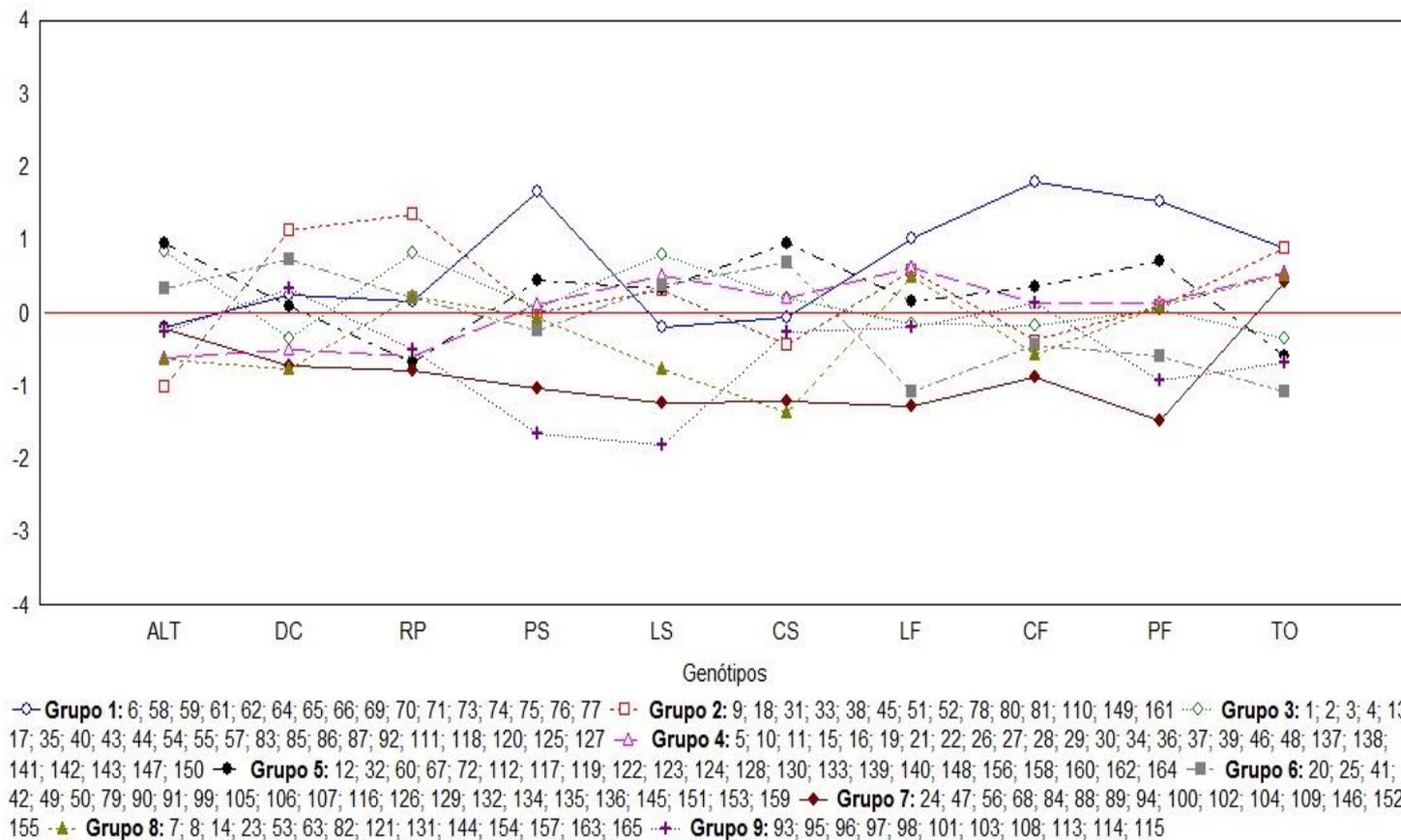
A análise de agrupamento foi realizada pelo método de Ward, que gerou o dendrograma apresentado na Figura 4.



**Figura 4.** Dendrograma da análise de agrupamento hierárquico utilizando a distância Euclidiana e a ligação entre os grupos pelo método de Ward, para os caracteres agrônômicos: altura da planta, diâmetro do caule, número de ramificações primárias, peso de semente, largura de semente, comprimento de semente, largura de fruto, comprimento de fruto, peso de fruto e teor de óleo.

O dendrograma (Figura 4) permitiu a formação de 9 grupos, a partir de um ponto de corte onde foram observadas mudanças bruscas de nível, conforme recomendação de Cruz (1990).

A análise de agrupamento não hierárquico pelo método k-médias (Figura 5), permitiu a caracterização dos nove grupos formados de acordo com o dendrograma gerado.



**Figura 5.** Gráfico do perfil da distribuição dos centróides dos grupos na análise de agrupamento por k-médias formados a partir das variáveis: altura da planta (ALT); diâmetro do caule (DC); número de ramificações primárias (RP); peso de semente (PS); largura de semente (LS); comprimento de semente (CS); largura de fruto (LF); comprimento de fruto (CF); peso de fruto (PF); teor de óleo (TO).

Podemos observar que, dos 9 grupos, 5 apresentaram teor de óleo acima da média, e estes mesmos grupos apresentaram altura da planta abaixo da média, ou seja, são considerados grupos com genótipos interessantes para cruzamentos em programas de melhoramento genético da espécie.

Em um estudo onde foram testados vários métodos multivariados para caracteres quantitativos, constatou-se que o método k-médias e a distância Euclidiana pelo agrupamento de Ward foram os mais eficientes (VIDIGAL, 2013).

O grupo 1 foi considerado o melhor grupo, formado pelos genótipos 6; 58; 59; 61; 62; 64; 65; 66; 69; 70; 71; 73; 74; 75; 76 e 77, destacando-se por apresentar os maiores valores para peso de semente, largura de fruto, comprimento de fruto, peso de fruto e teor de óleo, e ainda, baixa altura da planta. O grupo 2 foi composto pelos genótipos 9; 18; 31; 33; 38; 45; 51; 52; 78; 80; 81; 110; 149 e 161, caracterizado por apresentar maior

diâmetro de caule bem como maior número de ramificações primárias, além de também apresentar genótipos com alto teor de óleo e baixa altura da planta. Por sua vez, o grupo 3 foi considerado um grupo de pior desempenho por apresentar baixo teor de óleo e elevados valores para altura da planta.

O grupo 4 foi formado pelos genótipos 5; 10; 11; 15; 16; 19; 21; 22; 26; 27; 28; 29; 30; 34; 36; 37; 39; 46; 48; 137; 138; 141; 142; 143; 147 e 150, onde caracterizou-se por ter alto teor de óleo, porém baixo número de ramificações primárias. Os grupos 5 e 6 foram caracterizados por apresentarem altos valores para altura de planta e baixo teor de óleo, sendo portanto considerados não relevantes.

O grupo 7, apesar de apresentar baixos valores para todos os caracteres relacionados à semente e ao fruto, possui alto teor de óleo, e foi composto pelos genótipos 24; 47; 56; 68; 84; 88; 89; 94; 100; 102; 104; 109; 146; 152 e 155. O grupo 8 também foi considerado bom, pois apresentou baixa altura da planta e alto teor de óleo, formado pelos genótipos 7; 8; 14; 23; 53; 63; 82; 121; 131; 144; 154; 157; 163 e 165. Em contrapartida, o grupo 9 foi considerado não interessante pois caracterizou-se por apresentar baixos valores para os caracteres relacionados ao fruto e à semente, além de baixo teor de óleo.

De acordo com a formação dos grupos formados pelo dendrograma de Ward é possível recomendar hibridações entre os grupos 1 x 4; 1 x 7; 1 x 8; 2 x 4; 2 x 7; 2 x 8; 4 x 7 e 4 x 8, devido à distância entre os grupos, tendo assim heterogeneidade entre os mesmos, e por esses grupos apresentarem genótipos com características atrativas para o sistema produtivo do pinhão-manso, como baixo porte e alto teor de óleo.

Vale ressaltar que, dentro dos grupos, os genótipos pertencentes a diferentes acessos, apresentaram valores muito similares para alguns caracteres. Rao et al. (2008) e Spinelli et al. (2010) observaram associações positivas entre o número de ramos e altura de plantas, com o caráter produtividade, sendo uma informação muito importante para facilitar a seleção de genótipos promissores para esta cultura, que ainda possui muita variabilidade genética a ser explorada.

A análise de agrupamento indicou que há variabilidade dentro dos acessos, pois diferentes genótipos que pertencem ao mesmo acesso, estão em grupos distintos e nem sempre suas características se assemelham entre si, concordando com os resultados encontrados por Pazeto (2013). Reforçando esta informação, Abreu et al. (2009) obtiveram em acessos de pinhão-manso, altos coeficientes de herdabilidade para altura de planta, altura da primeira folha, diâmetro do caule e número de folhas, devido à ampla

variabilidade genética entre os acessos estudados. Quanto mais alta for a herdabilidade de uma característica, melhor será a predição do valor genético pelo desempenho individual e mais rápida a resposta à seleção para essa característica (OLIVEIRA et al., 2007).

Em razão desta variabilidade presente dentro dos acessos, o dendrograma gerado não revelou um padrão acerca das regiões geográficas em que estes pertencem, já que cada grupo reúne diferentes acessos dentro dele. Jun-ling et al. (2010) estudando 38 acessos provenientes de diferentes regiões da China e Indonésia, também observaram que estes estão misturados entre os grupos do dendrograma gerado pelo método UPGMA.

Com relação ao formato dos frutos, os genótipos 29, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75 e 77 apresentaram formato de fruto elipsóide lanceolado, sendo que a maioria deles pertence ao grupo 3. Todos os demais 152 genótipos apresentaram formato elipsóide esférico de fruto. Esses resultados corroboram com Laviola et al. (2011), que dentre 195 acessos de pinhão-manso avaliados, 190 apresentaram frutos no formato elipsóide esférico e apenas quatro com formato elipsóide lanceolado, e um com formato de fruto elipsóide ovóide. Pode-se concluir então que o formato de fruto é um caráter qualitativo que contribui pouco para a variância entre os acessos.

#### **4. CONCLUSÕES**

Existe variabilidade genética nos acessos de pinhão-manso para os caracteres avaliados, possibilitando que a mesma seja explorada em um programa de melhoramento genético para a cultura;

As análises multivariadas permitiram a caracterização de genótipos e também indicaram os mais divergentes para os caracteres de maior importância para o melhoramento genético, permitindo o direcionamento de cruzamentos;

Todos os caracteres permitiram a discriminação e caracterização dos genótipos, com exceção do caráter formato de fruto.

## 5. REFERÊNCIAS

ABREU F. B.; RESENDE, M. D. V.; ANSELMO, J. L.; SATURNINO, H. M.; BRENHA, J. A. M.; FREITAS, F. B. Variabilidade genética entre acessos de pinhão-manso na fase juvenil. **Magistra**, v. 21, n. 1, p. 36-40, 2009.

ANJANI, K. Pattern of genetic diversity among Fusarium wilt resistant castor germplasm accessions (*Ricinus communis* L.). **Electronic Journal of Plant Breeding**, v. 1, n. 2, p. 182-187, 2010.

CARVALHO, D. S. **Comportamento genético de progênes de meio-irmãos de pinhão manso no recôncavo baiano, Brasil**. 2010. 51 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2010.

CORRÊA, A. A. **Abordagem multivariada, perfil composicional e construção de curva de calibração para predição do teor de óleo em *Jatropha curcas* L.** 2014. 57 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Genética e Melhoramento de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2014.

CRUZ, C. D. **Aplicação de algumas técnicas multivariadas no melhoramento de plantas**. 1990. 188 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1990.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. Divergência genética. *In*: CRUZ, C. D.; REGAZZI, J. A.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. (Ed.). Viçosa: UFV, 2004. v.1, p. 377-413.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 1997. 390p.

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 pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) para produção de óleo combustível**. 1 ed. Viçosa, MG, 2007. 40 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Descritores de mamona utilizados pela Embrapa Algodão**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2008. 39 p. (Documentos, ISSN 0103-0205; 192).

GINWAL, H. S.; RAWAT, P. S.; SRIVASTAVA, R. L. Seed source variation in growth performance and oil yield of *Jatropha curcas* Linn. in central India. **Silvae Genetica**, v. 53, n. 4, p.186-192, 2004.

GONÇALVES, L. S. A.; RODRIGUES, R.; AMARAL AT, J.; KARASAWA, M.; SUDRÉ, C. P. Comparison of multivariate statistical algorithms to cluster tomato heirloom accessions. **Genetics and Molecular Research**, v. 7, n. 4, p. 1289-1297, 2008.

HAIR, J. F.; ANDERSON, R. E.; TATHUAM, R. L.; BLACK, W. C. **Análise multivariada de dados**. Porto Alegre, Artmed Editora S. A. 2005. p. 593.

HAIR, J. F.; BLACK, W.; BABIN, B.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L. **Análise Multivariada de dados**. Editora Bookman, Porto Alegre, 6ª ed., 2009. p. 688.

IQBAL, Z.; ARSHAD, M.; MAHMOOD, T.; WAHEED, A. Evaluation of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] germplasm for some important morphological traits using multivariate analysis. **Pakistan Journal of Botany**, v. 40, n. 6, p. 2323-2328, 2008.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. **Applied multivariate statistical analysis**. 3. ed. New Jersey: Prentice Hall, 1992. 642 p.

JUN-LING, S.; XIANG-NAN, J.; HUI-QUN, N.; PEI-GUANG, S.; SHI-HUI, N.; XIAO-YANG, C. AFLP analysis of genetic diversity of *Jatropha curcas* grown in Hainan, China. **Trees**, v. 24, n. 3, p. 455-462, 2010.

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

OLIVEIRA, M. M.; ROTA, E. L.; DIONELLO, N. J. L.; AITA, M. F. Herdabilidade e correlações genéticas do perímetro escrotal com características produtivas em bovinos de corte: Revisão. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 13, p. 141-146, 2007.

PAZETO, M. S. R. **Estudo da diversidade genética em acessos de *Jatropha* spp. por meio de caracteres morfológicos e marcadores moleculares ISSR**. 2013. 73 f. Tese (Doutorado em Agronomia - Genética e Melhoramento de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2013.

PAZETO, M. S. R.; UNÊDA-TREVISOLI, S. H.; CORRÊA, A. A. P.; VIANNA, V. F.; LEITE, D. C.; DI MAURO, A. O. Genetic diversity in *Jatropha* species from different regions of Brazil based on morphological characters and inters-simple sequence repeat (ISSR) molecular markers. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 25, p. 2066-2079, 2015.

PEREIRA, F. H. F.; PUIATTI, M.; MIRANDA, G. V.; SILVA, D. J. H.; FINGER, F. L. Divergência genética entre acessos de taro utilizando caracteres morfoqualitativos de inflorescência. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 3, p. 520-524, 2003.

RAO, G. R.; KORWAR, G. R.; SHANKER, A. K.; RAMAKRISHMA, Y. S. Genetic associations, variability and diversity in seed characters growth, reproductive phenology and yield in *Jatropha curcas* L. accessions. **Trees**, v. 22, p. 697-709, 2008.

REIS, M. V. M.; JUNIOR, P. C. D.; CAMPOS, T. O.; DIEGUES, I. P.; FREITAS, S. C. Variabilidade genética e associação entre caracteres em germoplasma de pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.). **Revista Ciência Agrônômica**, v. 46, n. 2, p. 412-420, 2015.

SPINELLI, V. M.; ROCHA, R. B.; RAMALHO, A. R.; MARCOLAN, A. L.; VIEIRA, J. R.; FERNANDES, C. F. MILITÃO, J. S. L. T.; DIAS L. A. S. Primary and secondary yield

components of the oil in physic nut (*Jatropha curcas* L.). **Ciência Rural**, v. 40, n. 8, p. 1752-1758, 2010.

STATSOFT, Inc. (2010). **STATISTICA**, versão 10. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).

VAKNIN, Y.; GHANIM, M.; SAMRA, S.; DVASH, L.; HENDELSMAN, E.; EISIKOWITCH, D.; SAMOCHA, Y. Predicting *Jatropha curcas* seed-oil content, oil composition and protein content using near-infrared spectroscopy - A quick and non-destructive method. **Industrial Crops and Products**, v. 34, n. 1, p.1029- 1034, 2011.

VIDIGAL, B. C. **Avaliação de agrupamentos em mistura de variáveis**. 2013. 69 f. Dissertação (Mestrado em Estatística Aplicada e Biometria) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

### **CAPITULO 3 – ANÁLISE DE ESPECTROSCOPIA POR INFRAVERMELHO PRÓXIMO VISANDO A DETERMINAÇÃO DO TEOR DE EXTRATO ETÉREO EM PINHÃO-MANSO**

**RESUMO** – O objetivo do presente trabalho foi desenvolver um modelo de calibração para a determinação do teor de extrato etéreo em sementes pinhão-manso por meio da espectroscopia do infravermelho próximo, no processo de seleção de genótipos superiores em programas de melhoramento genético. Foram utilizadas sementes de 174 plantas, que tiveram o óleo extraído pelo método "soxhlet" para obtenção dos valores de referência, os quais situaram-se entre 50,27% a 63,21% (m/m) de óleo. Os espectros foram coletados de sementes sem tegumento, intactas, por meio de acessório de rotação, em um equipamento NIR Bruker. Cada espectro foi retirado com uma média de 64 scans com resolução de  $16\text{ cm}^{-1}$ . As regiões espectrais selecionadas para a curva de calibração foram de  $8992\text{ a }7424\text{ cm}^{-1}$  e  $5336\text{ a }4928\text{ cm}^{-1}$ . Os coeficientes de correlação ( $R^2$ ) da curva construída foram de 0,73 para calibração e de 0,71 para validação, sendo o erro padrão médio de calibração (RMSEC) de 1,35 e o erro padrão médio de validação cruzada (RMSECV) de 1,40 entre os dados obtidos pelo método de referência e pelo NIR. Os resultados obtidos indicaram que o teor de óleo da espécie *Jatropha curcas* L. pode ser estimado pela espectroscopia no infravermelho próximo, e o método de referência utilizado foi satisfatório, apresentando boa correlação com a informação espectral. Contudo, é necessária a adição de novos dados de outros genótipos, para a melhoria da sua robustez e amplitude.

**Palavras-chave:** biodiesel, NIR, *Jatropha curcas* L.

## 1. INTRODUÇÃO

Os combustíveis fósseis são responsáveis por grande parte da poluição do ambiente, tanto pela emissão de gases de efeito estufa durante a combustão, quanto pelo descarte de resíduos ou pelos derramamentos que ocasionalmente ocorrem no mar e no solo. Além disso, por muitas vezes o consumo excede a produção (INTERNATIONAL ENERGY AGENCY, 2006). Portanto, torna-se cada vez mais urgente a procura por fontes renováveis com baixas taxas de poluição.

Considerando o pinhão-mansão como uma oleaginosa com grande potencial para produção de biodiesel, bem como a necessidade de serem selecionados genótipos com altos teores de óleo para futuros cruzamentos em programas de melhoramento genético da espécie, a escolha de um método apropriado para a predição do óleo contido nas sementes é primordial.

Tradicionalmente são utilizados métodos baseados no uso de solventes orgânicos para a quantificação do óleo presente nas sementes. No entanto, este é um processo relativamente demorado e de alto custo, sendo inviável quando há uma grande quantidade de amostras a serem analisadas (MATSIMBE, 2015). Além disso, é um método destrutivo, impossibilitando a utilização destas sementes para estudos genéticos posteriormente (CORRÊA, 2014).

A espectroscopia do infravermelho próximo (NIR) pode ser vantajosa para este propósito, uma vez que trata-se de uma técnica com resultados rápidos, seguros, precisos, sem a necessidade de preparo prévio das amostras e, o mais importante, sem destruição das sementes. O método consiste em estabelecer uma relação entre a resposta instrumental (sinal analítico) e uma determinada propriedade da amostra (teor de óleo, umidade, proteínas, por exemplo). A partir disso, é construído um modelo, que é descrito por uma equação matemática, onde a sua representação gráfica é identificada como uma curva de calibração ou curva analítica (FERREIRA; PALLONE; POPPI, 2013).

O conjunto de calibração tem por objetivo reproduzir a variabilidade dos parâmetros em estudo de amostras reais. Por sua vez, o conjunto de validação possui a finalidade de assegurar a qualidade do modelo (DANTAS FILHO et al., 2004; GALVÃO et al., 1999). O modelo ou curva de calibração por espectroscopia no infravermelho é uma técnica rápida e capaz de analisar substâncias orgânicas de forma confiável. O emprego desse método analítico mostrou-se eficiente e gerou um importante impacto na indústria de alimentos e na agricultura (FERREIRA; PALLONE; POPPI, 2013).

A espectroscopia NIR tem sido amplamente aplicada em estudos de espécies oleaginosas, como na identificação de diferentes óleos vegetais utilizados como matéria-prima para biodiesel (MUELLER, 2012), seleção de mutantes de soja para conteúdo de proteína e óleo (BARROS, 2011), análise proteômica em amendoim (ALVES, 2012), determinação das propriedades físicas de espécies oleaginosas (KNOTHE, 2006), dentre inúmeros trabalhos.

Mediante o exposto, o objetivo do presente trabalho consistiu em desenvolver um modelo de calibração para a predição do teor de extrato etéreo em sementes pinhão-manso por meio da espectroscopia do infravermelho próximo visando a seleção de genótipos com alto teor de óleo em programas de melhoramento genético.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Conjunto de calibração

Para a construção do modelo de calibração, foram utilizadas sementes provenientes de 171 plantas, oriundas de 59 acessos, listadas na Tabela 1. As sementes foram coletadas entre dezembro de 2014 e maio de 2015 e pertencem ao Banco de Germoplasma *in vivo* instalado no Departamento de Produção Vegetal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, latitude 21° 14' 05" S e longitude 48° 17' 09" W.

**Tabela 1.** Identificação, procedência e número de plantas dos genótipos de pinhão-manso avaliados. Jaboticabal – SP, 2015.

Acesso	Código do Acesso	Procedência	Latitude	Longitude	Nº Plantas Utilizadas
1	CNPA PM IV P1	Tocantinópolis - TO	06°19'S	47°24'W	3
2	CNPA PM IV P2	Tocantinópolis - TO	06°19'S	47°24'W	1
3	CNPA PM II P2	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	1
4	CNPA PM II P3	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	2
5	CNPA PM II P4	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	2
6	CNPA PM II P5	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	4
7	CNPA PM II P6	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	5
8	CNPA PM II P7	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	3
9	CNPA PM II P8	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	4

10	CNPA PM II P12	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	4
11	CNPA PM II P16	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	4
12	CNPA PM II P19	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	5
13	CNPA PM II P20	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	1
14	CNPA PM II P21	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	2
15	CNPA PM II P22	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	3
16	CNPA PM II P24	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	1
17	CNPA PM II P25	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	2
18	CNPA PM II P30	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	3
19	CNPA PM II P31	Garanhuns - PE	08°56'S	36°30'W	1
20	CNPA PM XI P1	Mundo Novo - PE	07°35'S	37°11'W	3
21	CNPA PM XI P2	Mundo Novo - PE	07°35'S	37°11'W	5
22	CNPA PM XI P3	Mundo Novo - PE	07°35'S	37°11'W	4
23	CNPA PM XI P4	Mundo Novo - PE	07°35'S	37°11'W	4
24	CNPA PM VII P1	Mundo Novo - PE	07°35'S	37°11'W	3
25	CNPA PM VII P2	Mundo Novo - PE	07°35'S	37°11'W	4
26	CNPA PM VII P6	Mundo Novo - PE	07°35'S	37°11'W	5
27	CNPA PM VII P7	Mundo Novo - PE	07°35'S	37°11'W	6
28	CNPA PM IX P1	Pugmil - TO	06°24'S	37°48'W	1
29	CNPA PM IX P3	Pugmil - TO	06°24'S	37°48'W	2
30	CNPA PM IX P5	Pugmil - TO	06°24'S	37°48'W	2
31	CNPA PM IX P6	Pugmil - TO	06°24'S	37°48'W	3
32	CNPA PM IX P7	Pugmil - TO	06°24'S	37°48'W	2
33	CNPA PM IX P8	Pugmil - TO	06°24'S	37°48'W	3
34	CNPA PM VIII P1	Alagoinha - PB	06°57'S	35°32'W	4
35	CNPA PM VIII P2	Alagoinha - PB	06°57'S	35°32'W	5
36	CNPA PM VIII P4	Alagoinha - PB	06°57'S	35°32'W	3
37	CNPA PM VIII P5	Alagoinha - PB	06°57'S	35°32'W	4
38	CNPA PM VI P1	Oliveira de Fátima - TO	10°42'S	48°54'W	4
39	CNPA PM VI P2	Oliveira de Fátima - TO	10°42'S	48°54'W	3
40	CNPA PM VI P3	Oliveira de Fátima - TO	10°42'S	48°54'W	3
41	CNPA PM VI P5	Oliveira de Fátima - TO	10°42'S	48°54'W	2
42	CNPA PM VI P6	Oliveira de Fátima - TO	10°42'S	48°54'W	4
43	CNPA PM VI P7	Oliveira de Fátima - TO	10°42'S	48°54'W	3
44	CNPA PM VI P8	Oliveira de Fátima - TO	10°42'S	48°54'W	1
45	CNPA PM X P1	Marizópolis - PB	09°47'S	49°39'W	5
46	CNPA PM X P2	Marizópolis - PB	09°47'S	49°39'W	2
47	CNPA PM X P3	Marizópolis - PB	09°47'S	49°39'W	5
48	CNPA PM X P4	Marizópolis - PB	09°47'S	49°39'W	4
49	IT 1	Ituverava - SP	20°20'S	47°46'W	3
50	IT 2	Ituverava - SP	20°20'S	47°46'W	2
51	IT 3	Ituverava - SP	20°20'S	47°46'W	3
52	IT 4	Ituverava - SP	20°20'S	47°46'W	2
53	IT5	Ituverava - SP	20°20'S	47°46'W	2
54	IT7	Ituverava - SP	20°20'S	47°46'W	3

55	IT 8	Ituverava - SP	20°20'S	47°46'W	1
56	IT 9	Ituverava - SP	20°20'S	47°46'W	1
57	IT 10	Ituverava - SP	20°20'S	47°46'W	2
58	IT 11	Ituverava - SP	20°20'S	47°46'W	1
59	IT 15	Ituverava - SP	20°20'S	47°46'W	1

Após a colheita das sementes, foram retirados os tegumentos das mesmas, visando a obtenção dos espectros no espectrofômetro NIR, modelo Tango, marca Bruker. Foi utilizado acessório de rotação pequeno, com resolução de  $16\text{ cm}^{-1}$  e média de 64 scans por leitura. Cada amostra contendo 100 sementes foi lida no aparelho em cinco repetições, na tentativa de diminuir prováveis erros, tais como de acomodação incorreta da amostra no recipiente, bem como para que se construísse um banco de informações com um maior número de dados e espectros.

## 2.2. Análise dos dados

A análise quimiométrica dos dados obtidos foi realizada utilizando-se o Software OPUS 7.0, o qual avalia o melhor método quimiométrico para análise de regressão dos dados, bem como o tratamento dos espectros.

Para a construção do modelo, foram calculados o erro quadrado médio de calibração (RMSEC), erro quadrado médio de validação cruzada (RMSECV) e o coeficiente de determinação ( $R^2$ ). Resultados elevados de  $R^2$  e valores baixos de RMSE indicam a obtenção do melhor modelo para predição do atributo a ser analisado.

## 2.3. Determinação dos teores de umidade e extrato etéreo pelos métodos de referência

Os procedimentos para se determinar os teores de umidade e extrato etéreo (EE) foram realizados no Laboratório de Biotecnologia Aplicada ao Melhoramento de Plantas pertencente ao Departamento de Produção Vegetal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus de Jaboticabal, SP.

Após a obtenção dos espectros, as amostras de sementes foram pesadas e dispostas em estufa a  $105\text{ °C}$  durante 24 horas para determinação da umidade e massa seca das mesmas (BRASIL, 2009).

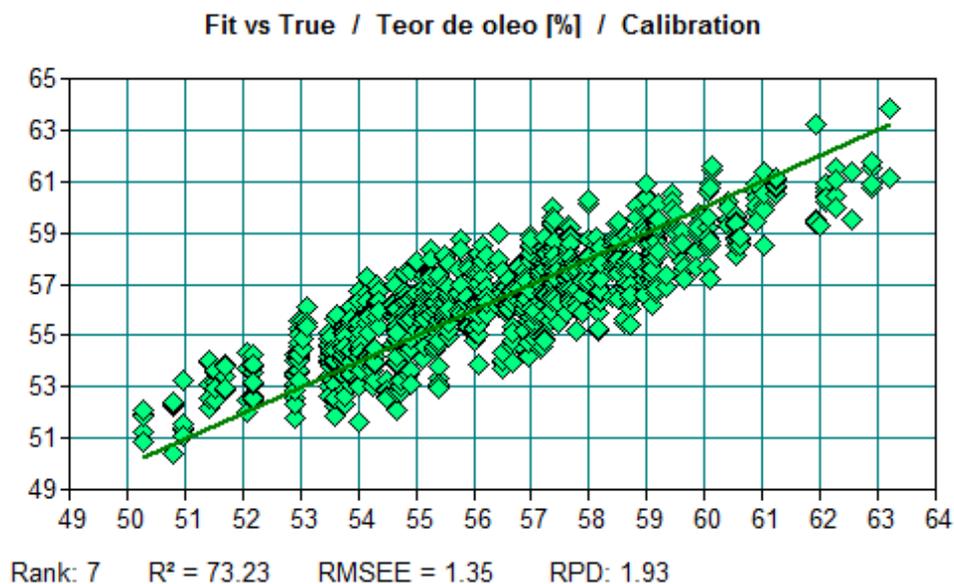
Após a secagem, amostras foram trituradas em mixer da marca George Foreman, modelo GFSB400B, e depois peneiradas em peneira GRANUTEST, da marca TELASTEM, ABNT 20, TYLER 20, com abertura de 0,84 mm. Foram utilizados 3 g do material moído para a determinação do EE, sendo as sementes oriundas de cada planta analisada em duplicata, sendo posteriormente calculada a média de cada planta.

A extração EE das sementes foi realizada por meio do equipamento modelo TE 044-5/50 (Fabricante Tecnal). O método de extração utilizado foi o processo contínuo do tipo "Soxhlet" conforme descrito no AOAC (1999), utilizando 100 mL de éter de petróleo da marca Dinâmica como solvente, cujo ponto de ebulição é 60 °C.

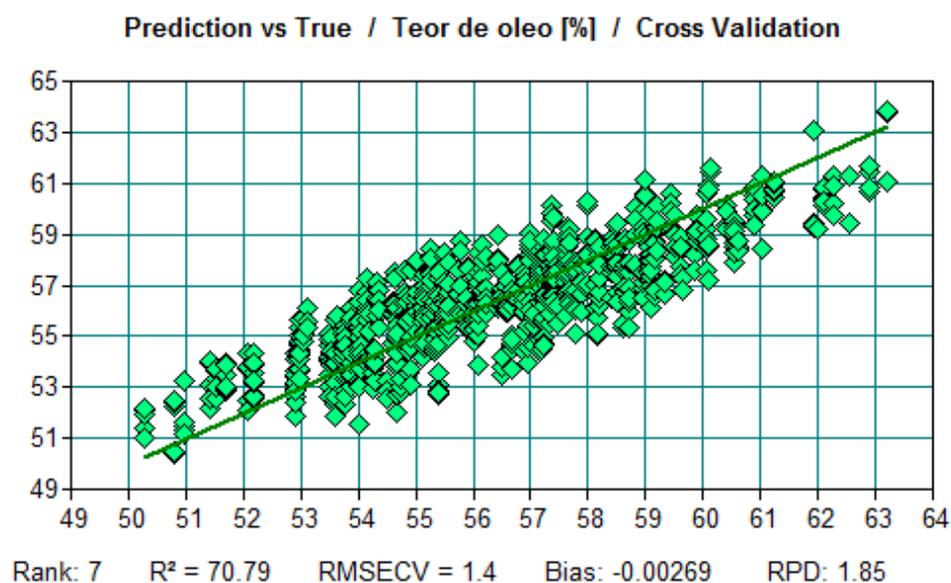
Terminado o ciclo de extração, as amostras foram transferidas para a estufa a 105 °C por 24 horas para evaporação do éter e da umidade e posteriormente pesadas em balança digital para obtenção das massas finais. Foi calculada a média das duplicatas, sendo este valor correlacionado com os espectros obtidos na leitura do equipamento NIR Tango-Bruker.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A curva de calibração que se ajustou aos parâmetros desejados, ou seja, maior  $R^2$  e menor RMSEC (Figura 1) apresentou uma correlação de 73,23% e um erro médio de 1,35. A curva de validação escolhida apresentou correlação 70,79% e RMSECV de 1,40 (Figura 2). As regiões selecionadas para a construção dos modelos de calibração e validação foram de 8992 a 7424  $\text{cm}^{-1}$  e 5336 a 4928  $\text{cm}^{-1}$ . Para tratamento dos espectros foi utilizada a 1º derivada.



**Figura 1.** Modelo de calibração para determinação do extrato etéreo de pinhão-mansão, a partir das leituras do equipamento NIR Tango-Bruker.



**Figura 2.** Curva de validação para determinação do extrato etéreo de pinhão-mansão, a partir das leituras do equipamento NIR Tango-Bruker.

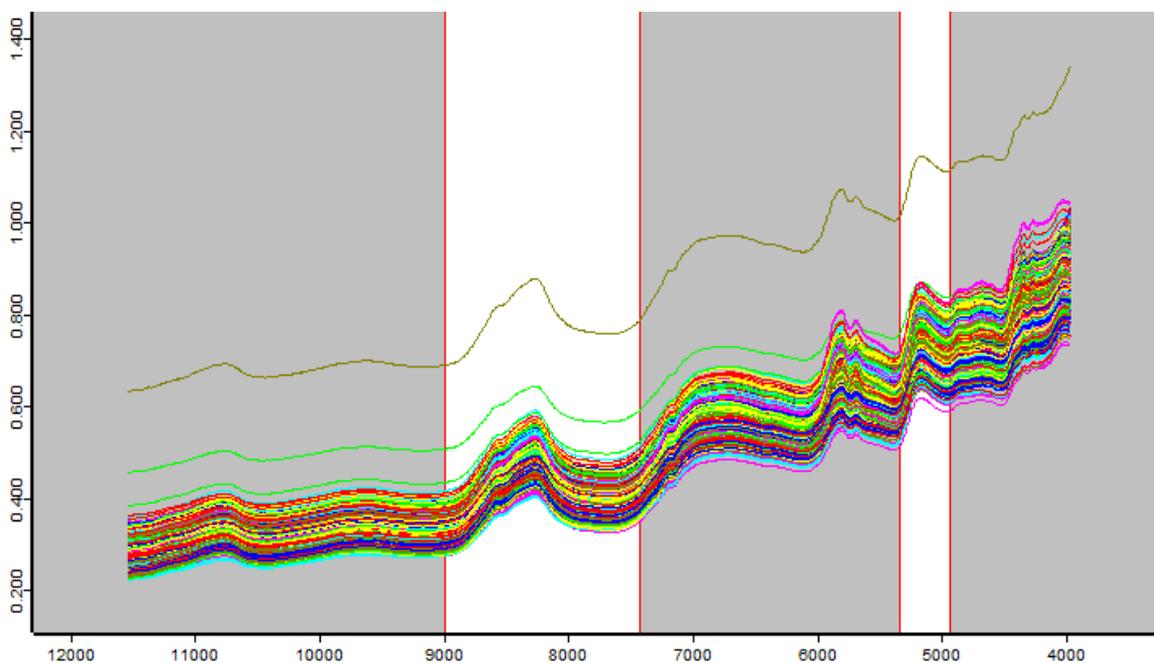
Nota-se nas Figuras 1 e 2, que as amostras apresentaram resultados bastante uniformes e bem distribuídos ao longo da reta de correlação entre os valores preditos e os reais, sendo um dos fatores que podem ser responsáveis pelos bons coeficientes de correlação.

A seleção correta das regiões espectrais também é fundamental para se obter uma boa correlação. Em estudos utilizando NIRS para desenvolvimento de curvas de calibração para predição de teor de óleos vegetais, diversos autores selecionaram

praticamente as mesmas regiões espectrais de comprimento de onda. Corrêa (2014) selecionou as regiões entre 8344 a 7736  $\text{cm}^{-1}$ ; 6072 a 4968  $\text{cm}^{-1}$  e 4520 a 3976  $\text{cm}^{-1}$  para óleo de pinhão-manso, Leite (2015) utilizou a região entre 10.553 a 4.492  $\text{cm}^{-1}$  para teor de óleo em soja e Pereira (2008) selecionou a região de 6184 a 3068  $\text{cm}^{-1}$  para viscosidade dos óleos de soja, milho, girassol e canola.

De acordo com Workman e Weywer (2007), o intervalo entre 4000 e 5000  $\text{cm}^{-1}$  é uma região com interação entre diferentes ligações químicas, resultando em alta sobreposição de picos de absorbância. Esta região é informativa e com pouco ruído, porém não é clara o suficiente para ser analisada quimicamente. O intervalo entre 5.000 e 9.000  $\text{cm}^{-1}$  representa a primeira e a segunda região harmônica, sendo também uma região informativa e com baixo nível de ruído. A terceira região harmônica corresponde à gama espectral que se estende desde 9.000 até 12.500  $\text{cm}^{-1}$ , onde, nesta região a absorção é baixa e com alto nível de ruído, resultando em informação de baixa qualidade.

Considerando que o interesse deste trabalho é a determinação do teor de óleo, foram selecionadas apenas as regiões do espectro que contêm informações relativas às ligações C-H, portanto, as regiões que foram selecionadas para a construção dos modelos de calibração e validação deste trabalho encontram-se destacadas na Figura 3.



**Figura 3.** Espectros das amostras de pinhão-manso e suas regiões selecionadas para calibração e validação.

Outro fato determinante para a construção de boas curvas de calibração e validação, é que estas sejam representativas da população para a qual será utilizada. Extrapolações para valores que estejam fora do intervalo que compõe o banco de dados inicial podem gerar baixas correlações, todavia, a construção desse banco de dados com valores de maior abrangência é uma das maneiras de amenizar essa problemática. No presente estudo, o teor de óleo das sementes utilizadas variou de 50,27% a 63,21%. A amplitude deste intervalo não é considerada alta, pois não abrangeria genótipos com menores teores de óleo, assim, é necessário complementar o banco de dados com outros valores que não estejam presentes neste intervalo, fornecendo assim uma maior amplitude, conseqüentemente uma maior abrangência e robustez ao modelo desenvolvido.

O pinhão-manso é uma espécie alógama, ou seja, os alelos são partilhados de forma aleatória, portanto, os genótipos das sementes de uma determinada planta podem ser diferentes a cada ciclo reprodutivo. Deste modo, é importante que sejam adicionados dados de vários anos agrícolas para que estes se distribuam por toda a faixa de abrangência, a fim de se obter maior robustez na curva (CORRÊA, 2014).

Semelhante aos resultados encontrados neste trabalho, foi realizado um estudo utilizando NIR para modelo de predição do teor de óleo em sementes de *Vernonia galamensis*, onde os autores encontraram um valor de  $R^2 = 0,71$  (BAYE; BECKER, 2004). Valores mais altos de correlação em calibração para predição de óleo foram encontrados em sementes de girassol com  $R^2 = 0,87$  (GRUNVALD et al., 2014), em sementes de macaúba foi obtido  $R^2 = 0,82$  (MATSIMBE et al., 2015), em sementes de cártamo com  $R^2 = 0,90$  (ELFADL et al., 2010) e em sementes de pinhão-manso de diferentes países, Vakinin et al. (2011) encontrou  $R^2 = 0,95$ , sugerindo boa habilidade preditiva do modelo.

Estes últimos autores relatam que a técnica NIR foi altamente eficaz para predição do teor de óleo, proteína, ácidos oleico e linoleico, porém, foi pouco eficaz para predições dos ácidos graxos esteárico e palmítico, concluindo que o NIR pode não ser uma técnica adequada para predição destas características (VAKININ et al., 2011).

A espectroscopia NIR é muito vantajosa na avaliação da qualidade de biodiesel, sendo amplamente utilizada por diversos autores. Rodrigues et al. (2015) determinaram o teor de glicerol livre em óleo de soja e etanol, Balabin, Lomakina e Safieva (2011) utilizaram a técnica NIR para a predição da densidade em amostras de biodiesel, e Gaydou, Kister e Dupuy (2011) construíram modelos para a detecção de adulteração em amostras de biodiesel. Diferentes espécies de *Jatropha* também foram identificadas por meio da técnica (BARROS et al., 2012).

Os valores de  $R^2$ , RMSEC e RMSEV obtidos no presente estudo indicaram que a avaliação de sementes intactas utilizando a equação de calibração estimada por espectroscopia NIR foi adequada para discriminar os teores de óleo de sementes oriundas de diferentes genótipos de pinhão-manso. Este método poderá ser vantajoso economicamente e ambientalmente, pois poderá reduzir consideravelmente tempo, custo, e o número de análises pelo método de referência (soxhlet).

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo indicaram que o teor de óleo da espécie *Jatropha curcas* L. pode ser estimado pela espectroscopia no infravermelho próximo.

As calibrações para predição do teor de óleo apresentaram coeficientes de correlação satisfatórios tanto para calibração quanto para validação. Além disso, o método de referência utilizado apontou resultados bastante satisfatórios, podendo ser utilizado para esta finalidade.

A curva de calibração desenvolvida pode ser utilizada para predição de teor de óleo em genótipos de pinhão manso, no entanto, sua robustez e amplitude necessitam ser ampliadas pela adição de novas leituras de diferentes genótipos com outros teores de óleo.

#### 5. REFERÊNCIAS

ALVES, A. M. M. **Embriogênese somática e aplicação da espectroscopia NIR na análise proteômica em amendoim**. 2012. 43 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2012.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed. Washington, D.C.: 1999. 1141 p.

BALABIN, R. M.; LOMAKINA, E. I.; SAFIEVA, R. Z. Neural network (ANN) approach to biodiesel analysis: Analysis of biodiesel density, kinematic viscosity, methanol and water contents using near infrared (NIR) spectroscopy. **Fuel**, v. 90, n. 5, p. 2007-2015, 2011.

BARROS, J. G. A. **Seleção de mutantes para conteúdo de proteína e óleo por espectroscopia do infravermelho próximo em soja submetidas à radiação gama**. 2011. 69 f. Tese (Doutorado em Bioquímica Agrícola), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

BARROS, T. F. S.; MEDEIROS, E. P.; ALMEIDA, P. B. A.; ARRIEL, N. H. C.; QUEIROZ, M. F.; FERNANDES, P. D. Aplicação da espectroscopia no infravermelho próximo e análise de componentes principais para identificação de óleos vegetais em espécies de *Jatropha*. In: ANAIS DO CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 5., **Anais...** Campina Grande, p. 418, 2012.

BAYE, T.; BECKER, H. C. Analyzing seed weight, fatty acid composition, oil, and protein contents in *Vernonia galamensis* germoplasma by near infrared reflectance spectroscopy. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 81, n. 7, p. 641-645, 2004.

BRASIL - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.

CORRÊA, A. A. **Abordagem multivariada, perfil composicional e construção de curva de calibração para predição do teor de óleo em *jatropha curcas* L.** 2014. 57 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Genética e Melhoramento de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2014.

DANTAS FILHO, H. A.; GALVÃO, R. K. H.; ARAÚJO, M. C. U.; SILVA, E. C.; SALDANHA, T. C. B.; JOSÉ, G. E.; PASQUINI, C.; RAIMUNDO JR., I. M.; ROHWEDDER, J. J. R. A Strategy for selecting calibration samples for multivariate modeling. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 72, p. 83-91, 2004.

ELFADL, E. et al. Development of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) calibration model for estimation of oil content in a worldwide Safflower germoplasm collection. **International Journal of Plant Production**, v. 4, n. 4, p. 259-270, 2010.

FERREIRA, D. S.; PALLONE, J. A. L.; POPPI, R. J. Fourier transform near-infrared spectroscopy (FT-NIRS) application to estimate Brazilian soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] composition. **Food Research International**, Barking, v.51, p. 53-58, 2013.

GALVÃO, R. K. H.; ARAÚJO, M. C. U.; JOSÉ, G. E.; PONTES, M. J. C.; SILVA, E. C.; SALDANHA, T. C. B. A method for calibration and validation subset partitioning, **Talanta**. v. 67, p. 736-738, 2005.

GAYDOU, V.; KISTER, J.; DUPUY, N. Evaluation of multiblock NIR/MIR PLS predictive models to detect adulteration of diesel/biodiesel blends by vegetal oil. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 106, n. 2, p. 190-197, 2011.

GRUNVALD, A. K.; CARVALHO, C. G. P.; LEITE, R. S.; MANDARINO, J. M. G.; ANDRADE, C. A. B.; SCAPIM, C. A. Predicting the oil contents in sunflower genotype seeds using near-infrared reflectance (NIR) spectroscopy. **Acta Scientiarum**, v. 36, n. 2, p. 233-237, 2014.

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY. **Energy Technology Perspectives...: Scenarios & Strategies to 2050**. OECD/IEA, 2006.

KNOTHE, G. Analyzing biodiesel: standards and other methods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 83, n. 10, p. 823-833, 2006.

LEITE, D. C. **Mapeamento de QTL e análises de espectroscopia para teor de óleo visando aplicação em programas de melhoramento de soja.** 2015. 85 f. Tese (Doutorado em Agronomia - Genética e Melhoramento de Plantas), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2015.

MATSIMBE, S. F. S.; MOTOIKE, S. Y.; PINTO, F. A. C.; LEITE, H. G.; MARCATTI, G. E. Prediction of oil content in the mesocarp of fruit from the macauba palm using spectrometry. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 46, n. 1, p. 21-28, 2015.

MUELLER, D. **Metodologia para identificação dos óleos vegetais utilizados como matéria-prima na produção de biodiesel por espectroscopia no infravermelho aplicando métodos multivariados de análise.** 2012. 137 f. Dissertação (Mestrado em Sistemas e Processos Industriais. Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, 2012.

PEREIRA, A. F. C. NIR spectrometric determination of quality parameters in vegetable oils using *r*PLS and variable selection. **Food Research International**, v. 41, n. 4, p. 341-348, 2008.

RODRIGUES, G. M.; TAVARES, G. R.; MELLO, B. T. F.; SILVA, C. Determinação do teor de glicerol livre por espectroscopia NIR. **E-xacta**, v. 8, n. 2, p. 65-71, 2015.

VAKNIN, Y.; GHANIM, M.; SAMRA, S.; DVASH, L.; HENDELSMAN, E.; EISIKOWITCH, D.; SAMOCHA, Y. Predicting *Jatropha curcas* seed-oil content, oil composition and protein content using near-infrared spectroscopy - A quick and non-destructive method. **Industrial Crops and Products**, v. 34, n. 1, p.1029- 1034, 2011.

WORKMAN, J.; WEYWER, L. **Practical guide to interpretive near-infrared spectroscopy.** Boca Raton: CRC, 2007. 332 p.