



EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS
EPAMIG Norte de Minas

PINHÃO-MANSO

*José Carlos Fialho de Resende
Luciana Nogueira Londe
Wânia dos Santos Neves*
Editores Técnicos

Nova Porteirinha
2013

© 2013 Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG)

Todos os direitos reservados. Nenhuma parte desta publicação pode ser reproduzida sem a autorização escrita e prévia dos editores técnicos.

PRODUÇÃO

EPAMIG Norte de Minas

Polyanna Mara de Oliveira

EPAMIG Sede

Departamento de Publicações

Vânia Lacerda

Revisão e Diagramação: Suprema Gráfica e Editora Ltda.

Capa: Letícia Martinez

Foto da capa: Biojan Agroindustrial Ltda.

Impressão: Suprema Gráfica e Editora Ltda.

Aquisição de exemplares

Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais

EPAMIG Norte de Minas

Rodovia MGT 122, km 155 Zona rural

CEP 39525-000 Nova Porteirinha-MG

Tel.: (38) 3834-1760 - e-mail: ctnm@epamig.br

EPAMIG-Sede - Divisão de Gestão e Comercialização - Telefax: (31) 3489-5002

e-mail: publicacao@epamig.br

Resende, José Carlos Fialho de

Pinhão-manso/José Carlos Fialho de Resende, Luciana Nogueira
Londe, Wânia dos Santos Neves. – Nova Porteirinha, MG: U.R.
EPAMIG NM, 2013.

524p.: il.; 22,5 cm.

ISBN 978-85-99764-20-6

1. Pinhão-manso. 2. Trato cultural. 3. Doença. I. L onde, L.N. II.
Neves, W.S. III. Título. IV. U.R. EPAMIG NM.

CDD 633.85

Melhoramento Genético de *Jatropha curcas* – Considerações e Metodologias

Ana Cristina Pinto Juhász
Marcos Deon Vilela de Resende
Bruno Galvêas Laviola
Márcia Regina Costa

1. Introdução ao melhoramento de espécies perenes

As espécies vegetais perenes, como as frutíferas arbóreas, as essências florestais, as palmáceas e as plantas forrageiras apresentam vários aspectos biológicos peculiares, que tornam o seu melhoramento genético bastante diferenciado do melhoramento de culturas anuais. Entre os referidos aspectos, citam-se: sobreposição de gerações, ciclo reprodutivo longo, reprodução sexuada e assexuada e expressão dos caracteres ao longo das várias idades.

Em consequência desses fatores, verificam-se os seguintes reflexos no melhoramento dessas espécies: utilização dos indivíduos selecionados, para produção durante vários anos – fato que demanda muito rigor e precisão nos métodos de seleção; uso de avaliações repetidas em cada indivíduo ao longo do tempo; seleção envolvendo comparações de indivíduos de diferentes gerações e, portanto, avaliados em diferentes condições ambientais – fato que requer o uso de métodos de avaliação genética mais elaborados; seleção também para os efeitos não aditivos (além da seleção para os efeitos aditivos) dos alelos, tendo em vista a propagação vegetativa dos indivíduos selecionados; relevância da unidade de seleção “indivíduo” em detrimento da unidade de seleção “média de grupos de indivíduos” – fato que demanda a predição dos valores genéticos (aditivos e não aditivos) individuais para fins de seleção; e redução na taxa de sobrevivência das plantas nos experimentos ao longo das idades, fato

que, associado à sobreposição de gerações, tende a gerar dados desbalanceados para uso na estimação de parâmetros genéticos e na predição dos valores genéticos individuais. Outro fator a considerar nessas espécies é a possível alteração no controle genético dos caracteres ao longo das idades.

A maioria das espécies perenes é alógama (menos de 5% de autofecundação) ou apresenta sistema reprodutivo misto (em que predominam os cruzamentos, mas ocorrem autofecundações em taxas inferiores a 50% e superiores a 5%), sendo raras as autógamas. A maioria das espécies perenes permite, também, a propagação vegetativa.

O sucesso de um programa prático de melhoramento genético de espécies perenes depende, fundamentalmente, de conhecimentos sólidos em: germoplasma e variação biológica entre e dentro de populações da espécie, metodologias de seleção e de melhoramento, destacando-se o emprego das técnicas de genética quantitativa.

O pinhão-mansó é uma espécie perene não tradicional, pois nunca foi cultivado e utilizado em larga escala. Recentemente, tem sido considerada, provavelmente, a principal espécie produtora de biodiesel. No contexto das espécies perenes, pertence ao grupo das Frutíferas Industriais, em que os frutos originam produtos que têm uso após sofrer processamento industrial, ou seja, os frutos não são usados *in natura*. No grupo de espécies perenes frutíferas industriais, algumas apresentam similaridades com o pinhão-mansó em termos de estratégias e métodos de melhoramento, bem como de métodos de seleção. Essas espécies, como acerola (PAIVA et al., 2001, 2002, 2007), cacau (DIAS; RESENDE, 2001), café (RESENDE et al., 2001), caju (CAVALCANTI et al., 2007), coco (FARIAS NETO et al., 2008), cupuaçu (SOUZA et al., 2002; ALVES; RESENDE, 2008), dendê (BARCELOS et al., 2000; RESENDE, 2002) e guaraná (ATROCH et al., 2004), podem servir como modelo para o pinhão-mansó; para algumas delas há relatos sobre o melhoramento em termos de metodologias de genética quantitativa. Entre as espécies supracitadas, a de maior similaridade com o pinhão-mansó – quanto à forma de avaliação e produto final de interesse, o óleo – é o dendê, e esse produto é derivado dos seguintes caracteres componentes da produção: número de cachos, número de frutos por cacho, peso de um

fruto e teor de óleo no fruto (mais precisamente na semente). No entanto, há uma diferença considerável quanto à forma de propagação do material genético melhorado: no pinhão-manso a propagação vegetativa é prontamente disponível e no dendê não. Nesse sentido, outras espécies similares são o cacau, o caju e o cupuaçu. Todas permitem a propagação vegetativa e têm também como caráter objetivo do melhoramento o produto dos caracteres número de frutos, peso de um fruto e teor de uma substância no fruto ou semente (proteína, por exemplo).

O aspecto perene de uma espécie conduz a um impacto direto nos esquemas de melhoramento, os quais devem ser capazes de produzir resultados práticos dentro de um período de tempo relativamente curto. Dessa forma, cultivares melhoradas devem ser criadas durante os diferentes estádios dos melhoramentos populacional ou interpopulacional.

A maneira mais adequada de conciliar a rápida obtenção de cultivares melhoradas e o melhoramento, no longo prazo, das espécies perenes é a adoção de esquemas de seleção recorrente. Em termos genéricos, as duas principais formas de seleção recorrente são a seleção recorrente intrapopulacional –SRI e a seleção recorrente recíproca – SRR (GALLAIS, 1978, 1989). A SRI capitaliza os efeitos aditivos dos alelos e, portanto, é uma ferramenta muito poderosa para o melhoramento populacional (seleção para a capacidade geral de combinação). A SRR enfatiza o melhoramento do híbrido interpopulacional, por meio do melhoramento do valor genético aditivo e também da heterose.

A heterose, ou vigor híbrido, está associada à capacidade específica de combinação (CEC) entre os genitores, sendo função da diversidade genética entre os progenitores e da dominância alélica nos locos que controlam o caráter de interesse. Dessa forma, um fator primordial na opção pela seleção para a capacidade geral de combinação (seleção recorrente intrapopulacional para os efeitos aditivos) ou pela seleção para capacidade específica de combinação (seleção recorrente recíproca enfatizando o híbrido interpopulacional) é o conhecimento da base genética do caráter de interesse, sobretudo quanto ao parâmetro grau médio de dominância (o qual pode ser inferido com base nas estimativas das herdabilidades individuais no

sentido restrito e amplo). Determinados caracteres não exibem dominância e, portanto, para o melhoramento destes, não se justifica a seleção para a CEC.

Outra modalidade de seleção muito empregada em espécies perenes é a seleção clonal, a qual deve estar relacionada à seleção para a CEC, constituindo, muitas vezes, o limite máximo da seleção para a CEC, por meio da clonagem dos melhores indivíduos dentro dos melhores cruzamentos específicos ou famílias.

Em muitas espécies perenes, grande parte do germoplasma jamais foi avaliada ou utilizada, tendo em vista que muitos programas de melhoramento genético, bem como a exploração econômica, iniciaram-se recentemente. Isso faz com que programas de conservação de recursos genéticos de muitas espécies perenes sejam prioritários, como forma de garantir a sua utilização futura.

Os bancos de germoplasma são numerosos e apresentam grande relevância para os programas de melhoramento de espécies perenes, pois, em geral, funcionam ao mesmo tempo como banco genético e como teste de introdução de espécies, populações e clones em diferentes regiões. Dessa forma, tais bancos, muitas vezes, fornecem materiais diretamente para os plantios produtivos, sem passar por testes experimentais adicionais.

Nesses bancos de germoplasma, geralmente cada acesso encontra-se representado por uma a dez plantas, obtidas por via sexuada ou assexuada, plantadas em uma única fileira. Nesse caso, se os dados produtivos obtidos nos bancos de germoplasma são utilizados para inferências sobre as produtividades comparativas dos acessos, tem-se uma comparação viciada entre tais acessos, visto que os princípios experimentais de repetição e casualização não foram observados. Recomenda-se, por ocasião da instalação de um banco, distribuir as várias plantas de um acesso em diferentes repetições casualizadas, de forma que os dados produtivos obtidos possam ser usados efetivamente na caracterização, avaliação, comparação e seleção de acessos em bancos de germoplasma.

Nos casos em que as plantas nos bancos de germoplasma ou em plantios de produtores não se encontram identificadas por matriz ou clone de origem, a única forma de proceder a uma seleção mais acurada é por meio da realização de uma estratificação ambiental (pela

divisão da área de plantio em vários blocos, *a posteriori*) e da adoção de medidas repetidas em cada uma das plantas, praticando-se a “seleção massal estratificada baseada em medidas repetidas ou em médias de safras”.

O melhoramento do pinhão-mansó deve seguir os passos do melhoramento de outras culturas perenes, tendo sempre em mente a adequada introdução e avaliação de materiais genéticos, a criteriosa experimentação de campo, a eficiente criação de novos genótipos superiores por meio da realização de adequados cruzamentos e recombinações e a precisa predição de valores genéticos para identificação dos genótipos superiores.

2. Objetivos do melhoramento genético

O programa de melhoramento deve ser estruturado para buscar a obtenção de cultivares com ideótipo de planta, cujas características atendam às exigências dos produtores (manejo, ganho econômico) e do mercado (especificação e qualidade do produto). De modo geral, o melhoramento do pinhão-mansó deve buscar a obtenção de cultivares com alta produtividade de grãos e óleo, com ausência ou baixa concentração de toxidez nas sementes, tolerantes aos estresses bióticos e abióticos e adaptadas às diferentes regiões produtoras (Figura 1). Entretanto, ressalta-se que nem todas as características desejáveis podem ser incorporadas de imediato, sendo necessário planejar o programa de melhoramento para obter ganhos progressivos.

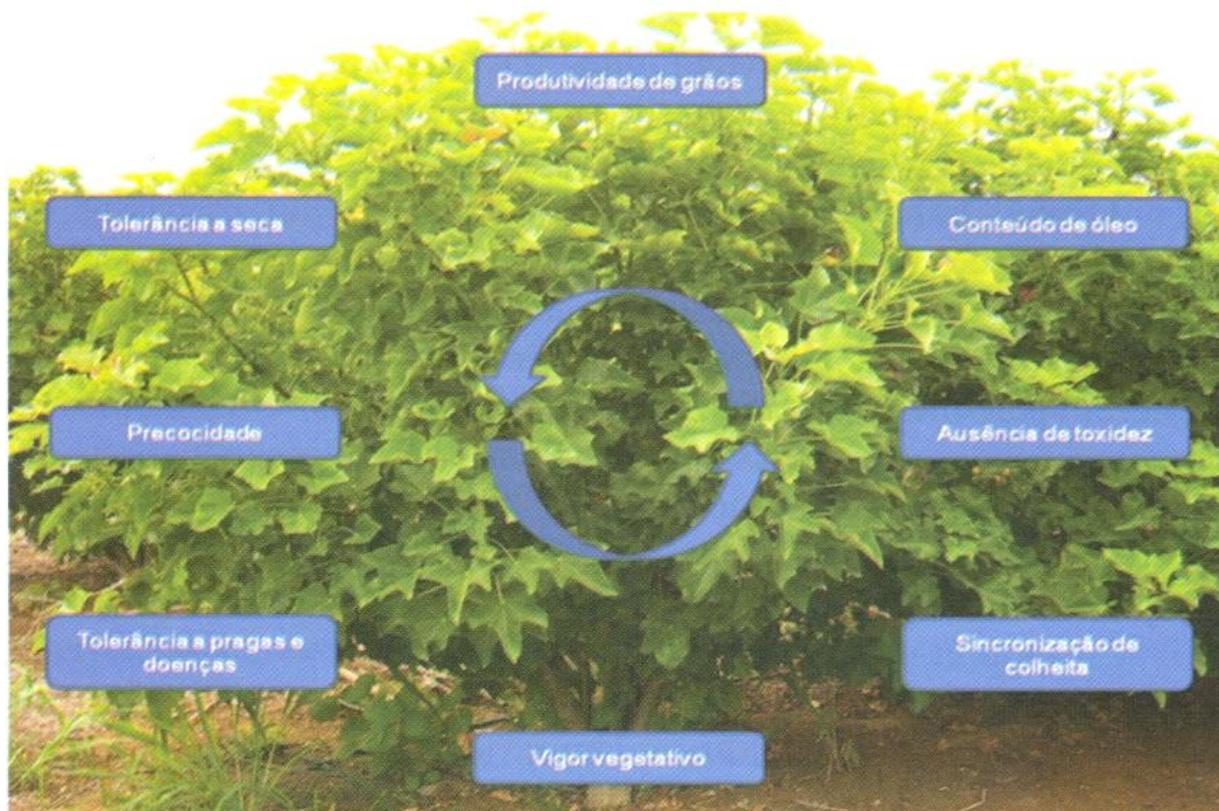


Figura 1. Características agronômicas que devem ser usadas como critério de seleção de cultivares de pinhão-manso.

Como ocorre para a maioria das espécies que estão no início do melhoramento, a seleção de genótipos de pinhão-manso para produtividade de grãos (produto comercial) é o foco prioritário. Paralelamente à produção de grãos, é importante que também sejam considerados como critério de seleção materiais com maior teor de óleo nos grãos, para que os ganhos de produção de grãos sejam acompanhados por produção de óleo. Apesar de atualmente as esmagadoras remunerarem o produtor por peso de grão, a tendência é de que grãos com maior teor de óleo sejam mais valorizados. Empresas como a Petrobrás, que estão atuando no ramo de biocombustíveis, estão ampliando suas instalações, com a construção de usinas para a fabricação de biodiesel. Em Montes Claros, norte de Minas Gerais, a Petrobrás já definiu que a matéria-prima a ser comprada será o óleo e não as sementes de oleaginosas. Além disso, o preço será em função da qualidade do óleo, após análises laboratoriais. Dessa forma, essa é uma característica que deve ter um peso importante durante a seleção de materiais superiores.

Caracteres relacionados à produção de grãos e, conseqüentemente, à produção de óleo podem ser decompostos nos seguintes fatores (HELLER, 1996; PARAMATHMA et al., 2007a):

- Número de inflorescências por planta;
- Número de flores femininas por inflorescência;
- Número de frutos por inflorescência;
- Número de sementes por fruto;
- Peso de 100 ou 1.000 sementes; e
- Teor de óleo da semente.

Além de características relacionadas diretamente à produtividade, outras merecem destaque:

- Sincronismo de maturação dos frutos, para reduzir o número de colheitas numa mesma planta;
- Resistência às principais pragas, como cigarrinha, percevejo, ácaro e cochonilha, reduzindo as perdas pelo ataque das pragas;
- Resistência às principais doenças, como ao oídio e outras ainda não identificadas, mas que já causam prejuízos às lavouras;
- Desenvolvimento de cultivares não tóxicas, para que a torta seja utilizada para ração animal; e
- Redução da altura das plantas, para facilitar a colheita manual.

O pinhão-manso inicia a produção de grãos já no primeiro ano de cultivo. A fim de melhorar a recuperação do capital investido, é interessante selecionar materiais mais precoces, que apresentam maior produtividade já no primeiro ano. É necessário também fazer um estudo de correlação e repetibilidade, para verificar quais materiais precoces permanecem superiores ao longo dos anos produtivos. Para isso, devem se fortalecer a formação e a caracterização de Bancos Ativos de Germoplasma de *Jatropha* sp., para que os acessos possam ser caracterizados no tocante às características de interesse.

Avaliações para resistência a pragas e doenças também devem ser feitas nos BAGs, para que sejam identificadas fontes de resistência a serem incorporadas nos programas de melhoramento. Materiais resistentes reduzem o custo de produção, diminuindo a utilização de produtos químicos para o controle, além de dar maior segurança aos produtores.

3. Introdução e conservação de recursos genéticos de pinhão-manso

A coleta de acessos para compor bancos de germoplasma deve ser realizada de acordo com um plano estratégico de execução, o qual deve considerar aspectos relacionados à distribuição da planta, aos objetivos e aos locais prospectados (COELHO; BARROS, 2005). A planta pode ser encontrada em fundos de quintais, jardins, terrenos baldios, formando cerca viva e isolada em pastagens antropisadas, mas não muito longe de residências (Figura 2). Para o pinhão-manso, o período de coleta de germoplasma, na maioria das regiões do Brasil, varia de dezembro a abril, podendo se coletar frutos maduros ou secos para retirada das sementes ou mesmo estacas, de preferência de ramos basais, que enraízam com maior facilidade durante a estação de crescimento. Os locais de coleta dos materiais de pinhão-manso devem ser fotografados e georreferenciados, e aspectos do local e da planta, anotados em uma ‘ficha de coleta’ para constituir os dados de passaporte.



Figura 2. Formas de ocorrência e uso do pinhão-mansinho no Brasil – A) sombreamento de residência, Rio Verde, GO; B) cerca viva, Santa Inês, MA; C) em fundo de quintal com histórico de uso para produção de sabão, Nova Porteirinha, MG; D) em pastagem, próximo a estrada, São Francisco do Glória, MG; E) uso para proteção de terreiro contra enxurrada, Apucarana, PR; F) em pastagem, porém próximo a uma antiga residência, São Miguel do Araguaia, GO.

Fotos: Embrapa Agroenergia.

Para uso efetivo dos recursos genéticos do banco de germoplasma em um programa de melhoramento, os acessos devem estar devidamente avaliados e caracterizados através de fenotipagem e genotipagem. A primeira deve ser realizada por meio de descritores botânicos herdáveis, que permitam a detecção da diversidade genética, bem como o uso dos acessos no programa de melhoramento genético. De forma articulada com a fenotipagem, deve-se realizar a genotipagem por meio de marcadores moleculares, a fim de auxiliar na detecção da diversidade existente e na conclusão quanto a ocorrências de duplicatas no banco de germoplasma.

O germoplasma caracterizado é mantido no banco de germoplasma para uso planejado a curto, médio e longo prazo no programa de melhoramento da espécie. Acessos elites podem ser testados diretamente em ensaios para obtenção de novas cultivares comerciais ou em cruzamentos com outros genótipos elites. De acordo com Resende (2005), o ideal é selecionar materiais genéticos com elevada, média e ampla variabilidade genética, para proporcionar ganhos contínuos com seleção ao longo de várias gerações. Os demais acessos devem ser mantidos como fontes de genes para características de interesse, ou mesmo para uso na obtenção de novas combinações genéticas, conforme necessidade do programa de melhoramento. Além dessas finalidades, o acesso mantido no banco de germoplasma pode ser usado para o intercâmbio de materiais, por meio de acordos bilaterais entre países, proporcionando avanços significativos nas pesquisas e na obtenção de cultivares.

A introdução contínua de novos genótipos nos bancos de germoplasma contribui para ampliar a variabilidade genética de caracteres quantitativos, fornecer caracteres qualitativos no conjunto gênico, ou até mesmo resultar em cultivar para uso direto (CASTRO et al., 2005). Considerando a hipótese de que a base genética de pinhão-manso no Brasil seja estreita, é essencial a introdução de acessos do centro de origem da espécie, onde está a maior fonte de variabilidade genética. Na introdução de materiais originados de outros países, deve-se ter sempre a preocupação de não introduzir pragas exóticas no país. Existe um serviço de quarentena de germoplasma na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen), por onde deve passar todo o material introduzido. Já foi

relatada a ocorrência do vírus do mosaico em Porto Rico, Índia e Quênia (NARAYANA et al., 2006) e de um lepidóptero (*Spodoptera litura*) na Índia (MESHARAM; JOSHI, 1994), ambos sem ocorrência no Brasil (OLIVEIRA et al., 2007). Por ser o pinhão-manso uma espécie da qual pouco se conhece, a importação de sementes deve ser planejada com critérios, a fim de evitar a introdução de pragas quarentenárias, que poderão trazer sérios problemas para o cultivo da espécie e para outras euforbiáceas no País.

Atualmente a Embrapa Agroenergia coordena o enriquecimento e a caracterização de uma coleção-base de germoplasma de pinhão-manso com acessos oriundos do Brasil e exterior, principalmente da América Central, onde está o provável centro de origem da espécie. Os acessos caracterizados são fonte de diversidade genética para os bancos ativos de germoplasma ou coleções de trabalho de unidades da Embrapa, Universidades e Instituições de Pesquisas Estaduais, como a Epamig, que realizarão o melhoramento genético visando à seleção e obtenção de cultivares adaptadas às diferentes regiões produtoras.

4. Sistema reprodutivo de *Jatropha curcas*

Os procedimentos adotados na execução dos trabalhos de melhoramento genético de espécies perenes frutíferas arbóreas dependem, fundamentalmente, do seu modo de reprodução e do conhecimento da biologia floral, incluindo a morfologia floral, o tipo de reprodução e os aspectos relativos à polinização e fertilização. São importantes também as consequências das alterações induzidas artificialmente no modo de reprodução, nos cruzamentos dirigidos e nas autofecundações. Além disso, o fruto e as sementes são as partes mais importantes da planta do ponto de vista econômico, o que justifica a importância dada às flores, ao florescimento e à frutificação (BARROS et al., 1999).

O florescimento é um dos estágios fenológicos mais importantes para a produção de óleo em *Jatropha curcas*, uma vez que o número de flores femininas e sua fecundação determinam quantos frutos e sementes serão desenvolvidos. O florescimento normalmente inicia-se após um período de dormência da planta (no Brasil, após o

inverno, período em que as temperaturas e a precipitação são reduzidas). Após a indução do florescimento, este se torna contínuo por períodos prolongados, de acordo com a disponibilidade de água no solo, que pode ser por meio da precipitação ou irrigação. A limitação de nutrientes também acarreta a paralisação do florescimento (JONGSCHAAP et al., 2007).

Jatropha curcas possui inflorescência do tipo cimeira definida (Figura 3), sendo emitida junto com as brotações novas. As flores são unissexuais, sendo produzidas flores masculinas e femininas na mesma inflorescência. Normalmente, a inflorescência produz uma flor feminina central, rodeada por flores masculinas (RAJU; EZRADANAM, 2002).



Figura 3. Inflorescência de *Jatropha curcas*, com flores femininas centrais e masculinas ao redor.

Foto: Ana Cristina P. Juhász - Epamig

Geralmente as flores masculinas abrem antes das femininas (RAJU; EZRADANAM, 2002; CHANG-WEI et al., 2007; DNISSA; PARAMATHMA, 2007). Dependendo das condições ambientais,

como observado em Nova Porteirinha, região semiárida do Norte de Minas Gerais, pode ocorrer o inverso, ou seja, algumas flores femininas desabroçam antes que as masculinas se abram (SATURNINO et al., 2005). Esse padrão desuniforme de abertura das flores masculinas e femininas favorece a fecundação cruzada ou xenogamia (HELLER, 1996; CHANG-WEI et al., 2007). A abertura floral se dá no período da manhã. Os estigmas se tornam receptivos de uma a duas horas após a abertura floral (BHATTACHARYA et al., 2005), e permanecem assim por três dias (RAJU; EZRADANAM, 2002). Se não houver fecundação, a flor feminina não se desenvolverá e será abortada.

Na Índia, Raju e Ezradanam (2002) relatam que uma inflorescência pode produzir de uma a cinco flores femininas e de 25 a 93 flores masculinas, com uma média de flores masculinas para femininas de 29:1. Bhattacharya et al. (2005) descrevem uma proporção de 2 a 19 flores femininas para 17 a 105 flores masculinas por inflorescência, também na Índia. Em Janaúba-MG, região semiárida de Minas Gerais, observou-se em agosto de 2008 uma variação de 4 a 22 flores femininas para 87 a 222 masculinas por inflorescência, em experimento irrigado em plantas jovens de aproximadamente seis meses. A abertura das flores femininas não foi padronizada, e o intervalo de abertura floral variou com o número de flores femininas por inflorescência (Figura 4).

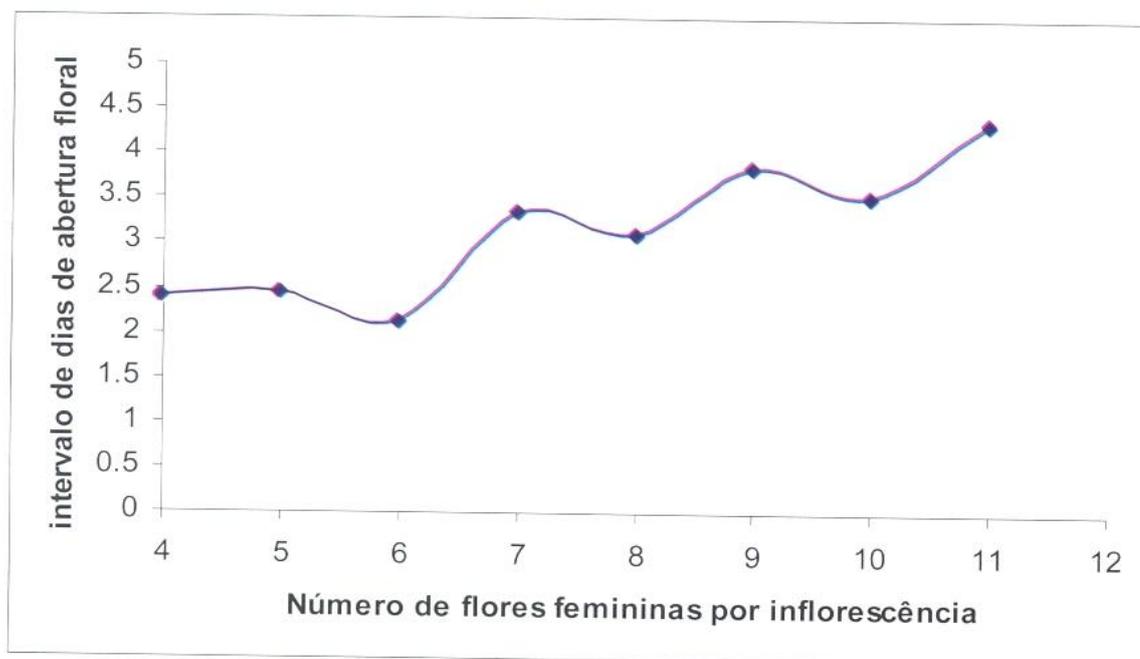


Figura 4. Média (em dias) de abertura floral em relação ao número de flores femininas por inflorescência.

A polinização é entomófila, ocorrendo preferencialmente por insetos. Raju e Ezradanam (2002) relatam que no período de floração, na Índia, as flores são mais frequentemente visitadas por abelhas, formigas, moscas e tripes. Bhattacharya et al. (2005) relatam que as abelhas *Apis dorsata*, *A. florea* e *A. mellifera* são polinizadores efetivos de *Jatropha*, ao passo que os himenópteros dos gêneros *Eumenes* e *Vespa*, bem como coleópteros, utilizam o néctar apenas como recurso alimentar, não contribuindo para o processo de polinização. Portanto, a presença dos insetos polinizadores é necessária à efetiva polinização de *Jatropha* (HELLER, 1996). Na Epamig-URENM, foram realizados testes cobrindo-se a inflorescência com sacos de papel, sendo bem fechados com fios de lã e vedados com vaselina, para evitar a entrada de insetos. A taxa de pegamento de frutos foi de apenas 1% na ausência de insetos polinizadores.

Para se avaliar o sistema reprodutivo de *Jatropha curcas*, Raju e Ezradanam (2002) fizeram testes com polinização manual. A geitonogamia foi testada pela polinização das flores femininas com pólen de flores masculinas da mesma planta e a xenogamia, pela polinização das flores femininas com pólen de flores masculinas de outra planta da mesma espécie. No primeiro tipo, obtiveram cerca de

77% de pegamento dos frutos e, no segundo, 96%. Todos os frutos xenogâmicos desenvolveram-se até a maturação. No entanto, 23% dos frutos geitonogâmicos abortaram antes de completarem total desenvolvimento. Em *Jatropha mutabilis* e *J. mollissima*, Santos et al. (2005) observaram que a maioria dos frutos foram formados por xenogamia, com uma taxa de pegamento de 80% para *J. mutabilis* e de 95% para *J. mollissima*, em condições de Caatinga, no Nordeste do Brasil. A taxa de pegamento por geitonogamia variou de 60 a 65%. Não ocorreu apomixia em nenhuma das duas espécies.

Em Janaúba-MG, região semiárida de Minas Gerais, em experimento irrigado desenvolvido pela Epamig-URENM em agosto de 2008, foram avaliados porcentagem de pegamento natural, apomixia, geitonogamia, autofecundação manual, autofecundação natural e xenogamia, em plantas jovens (Tabela 1). Houve pouca diferença na taxa de pegamento entre geitonogamia (79%) e xenogamia (85%). Praticamente todas as flores femininas de cruzamentos naturais desenvolveram frutos (99%). Foi observada a ocorrência de apomixia, assim como relatado por Chang-Wei et al. (2007). Houve formação normal dos frutos e sementes. Apenas o peso médio de frutos e o número médio de sementes por fruto foram inferiores significativamente para o tratamento “autofecundação natural” (ver descrição na Tabela 1), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (Tabela 2). Para a característica peso médio de sementes, não houve diferença significativa entre os tratamentos. Pode-se concluir com essa prévia avaliação que os insetos polinizadores são eficazes na polinização do pinhão-manso, uma vez que a taxa de pegamento, desenvolvimento de frutos e sementes foi superior nessas condições.

Tabela 1. Avaliação do sistema reprodutivo de *Jatropha curcas*, sob irrigação, pela Epamig-URENM em agosto de 2008. Foram utilizadas cerca de 530 flores femininas para as avaliações

Testes	Metodologia	Pegamento (%)
Cruzamento natural	Contagem do n° de flores femininas e frutos formados	99
Apomixia	Retirada de flores masculinas da inflorescência antes da antese e proteção dela contra entrada de insetos.	5
Geitonogamia	Polinização das flores femininas com pólen de flores masculinas da mesma planta	79
Autofecundação manual	Polinização das flores femininas com pólen de flores masculinas da mesma inflorescência	86
Autofecundação natural	As inflorescências foram protegidas para evitar o contato com insetos e foram “agitadas” diariamente durante a abertura das flores	20
Xenogamia	a. Polinização das flores femininas com pólen de flores masculinas de outra planta	81
	b. Polinização das flores femininas com uma mistura de pólen de flores masculinas de outras plantas	85

Tabela 2. Teste de comparação de médias para as características peso médio de frutos e número médio de sementes por fruto na avaliação do sistema reprodutivo de *Jatropha curcas* (experimento desenvolvido pela Epamig-URENM, agosto de 2008)

Tratamento	Peso médio de frutos (g)	Número médio de sementes por fruto
Cruzamento natural	3,13 a	2,94 a
Geitonogamia	2,86 a	2,63 a
Autofecundação manual	2,88 a	2,64 a
Autofecundação natural	1,88 b	1,5 b
Xenogamia a.	2,61 ab	2,28 ab
Xenogamia b.	2,95 a	2,76 a

Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Abdelgadir et al. (2008) estudaram frutos formados a partir de autofecundação e fecundação cruzada de *Jatropha curcas*. Houve maior produção de frutos a partir de fecundação cruzada, além de eles serem maiores e mais pesados do que aqueles produzidos por autofecundação. Flores com polinização cruzada tiveram maior estabelecimento de frutos do que as autofecundadas. Flores expostas a uma ou várias visitas de abelhas produziram significativamente mais frutos do que aquelas que não receberam visitas, o que indica que as abelhas são eficazes polinizadores.

4.1. Híbridação

A híbridação artificial de plantas é um dos recursos utilizados para reunir características desejáveis em diferentes genitores em um único indivíduo, atendendo a determinada necessidade do programa de melhoramento da espécie, do produtor ou das necessidades de um nicho de mercado.

A híbridação tem por objetivo aumentar a variabilidade genética disponível para as características de interesse ao programa de melhoramento genético, permitindo ao melhorista obter sucesso com a seleção de plantas superiores. Uma vez que as características de

interesse são encontradas, algumas vezes, em genótipos menos adaptados ou em espécies silvestres, estas podem ser transferidas por meio de hibridação para os genótipos promissores em outros aspectos. O resultado desses cruzamentos pode gerar híbridos ou variedades superiores.

Na Índia, a hibridação entre várias espécies de *Jatropha* está sendo realizada com o objetivo de desenvolver híbridos e variedades com teor de óleo superior e adaptados a solos improdutivos para reflorestamento (PARAMATHMA et al., 2007b).

As metodologias para realização das hibridações são específicas para cada espécie, e estudos são necessários para se conhecer qual é a mais adaptada a *Jatropha curcas*. Estudos de hibridação realizados pela Epamig-URENM indicam que, nas condições de Janaúba-MG, a utilização de sacos de organza (Figura 5) para proteger a inflorescência da presença de insetos foi o mais adequado. Devido às altas temperaturas da região, esse método de proteção das inflorescências minimizou o abortamento de flores antes mesmo da sua abertura.



Figura 5. Proteção da inflorescência de pinhão-manso com saco de organza.

Foto: Ana Cristina P. Juhász - Epamig

Para os testes do estudo do sistema reprodutivo em *J. curcas*, várias inflorescências foram utilizadas. Estas foram protegidas antes da antese de qualquer flor. De acordo com os objetivos, as flores masculinas foram retiradas ou não, com o auxílio de uma pinça, ainda no estágio de botão floral. O acompanhamento da abertura das flores femininas deve ser diário, para que a polinização seja feita logo após a abertura delas (Figura 6A), ocasião em que a receptividade do estigma é máxima. Dnissa e Paramathma (2007) afirmam que, após a completa abertura da flor feminina, a receptividade do estigma é de 81,25% para *Jatropha curcas*. A viabilidade do pólen também é reduzida, ou seja, o pólen fresco tem uma viabilidade de 85,16%, a qual vai decrescendo ao longo da manhã. No segundo dia, o pólen já perdeu toda sua viabilidade.

Para a hibridação, coletam-se as flores masculinas nas inflorescências do genitor masculino (Figura 6B) nas primeiras horas da manhã, e efetua-se a polinização manual, colocando as anteras da flor coletada sobre o estigma da flor feminina receptora, de forma que os grãos de pólen se soltem e continuem aderidos à superfície do estigma (Figura 6C). Cobre-se novamente a inflorescência com o saco de organza, e aproximadamente 15 dias após a polinização já é possível verificar o pegamento dos frutos (Figura 7). Os frutos, quando maduros, devem ser colhidos e identificados, e as sementes, retiradas manualmente.

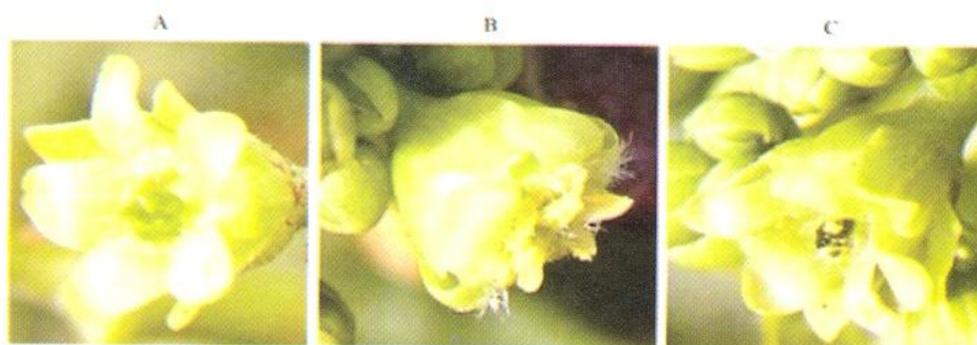


Figura 6. Flor feminina recém-aberta sem deposição de pólen (A); flor masculina aberta com grande liberação de pólen B); flor feminina aberta com deposição de pólen (C).

Fotos: Ana Cristina P. Juhász - Epamig.

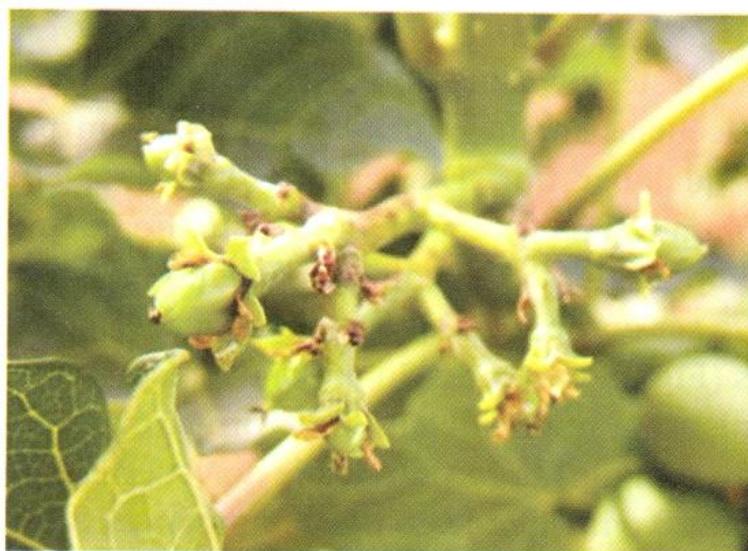


Figura 7. Pegamento dos frutos 15 dias após polinização manual das primeiras flores abertas.

Foto: Ana Cristina P. Juhász - Epamig.

Na Índia, estudos de hibridação entre *J. curcas* e *J. integerrima* têm sido desenvolvidos para a produção de híbridos com maior produtividade e teor de óleo. A maioria dos híbridos F₁ foi estéril, e apenas três foram totalmente férteis. Alguns apresentaram grande número de produção de sementes, moderado crescimento e bom tamanho de sementes. Outros foram menos parecidos com *J. curcas*, porém produziram frutos grandes. Duas gerações de retrocruzamento foram obtidas, utilizando o *J. curcas* como parental recorrente. Observou-se grande variação em características morfológicas, tais como no formato da folha, base e margem foliar, etc. (PARAMATHMA et al., 2007b). Sujatha e Prabakaran (2003) avaliaram o mesmo híbrido, observando ainda que na geração F₁ as flores possuíam três cores distintas. Já nos retrocruzamentos, a variação de cor foi mais intensa. Os autores sugerem a utilização destes híbridos como ornamentais.

4.2. Genética e Citologia

Até o momento pouco se conhecia sobre o genoma de *Jatropha curcas*. Recentemente, Carvalho et al. (2008) mediram o tamanho do genoma, a composição de bases e o cariótipo de *J. curcas* por citometria de fluxo. A análise morfológica mostrou que *J. curcas* tem $2n=22$ cromossomos, assim como descrito por Paramathma et al. (2007a), Soontornchainaksaeng e Jenjittikul (2003) e Jha et al. (2007). Os cromossomos são pequenos, variando de 1,71 a 1,24 μm . Cinco são metacêntricos e seis são submetacêntricos (Figura 8). Os cromossomos de 1-10 na sua forma haploide ($n=11$) podem formar os pares 1-2, 3-4, 5-6, 7-8 e 9-10 devido à sua identidade para tamanho total, tamanho dos braços cromossômicos e a proporção de braços cromossômicos longos para curtos. Os autores sugerem ainda que *J. curcas* é uma espécie autotetraploide. Devido ao pequeno tamanho do genoma, número de cromossomos, facilidade de manipulação vegetativa e transformação genética, a biotecnologia é uma ferramenta aplicável ao melhoramento de *Jatropha curcas*.

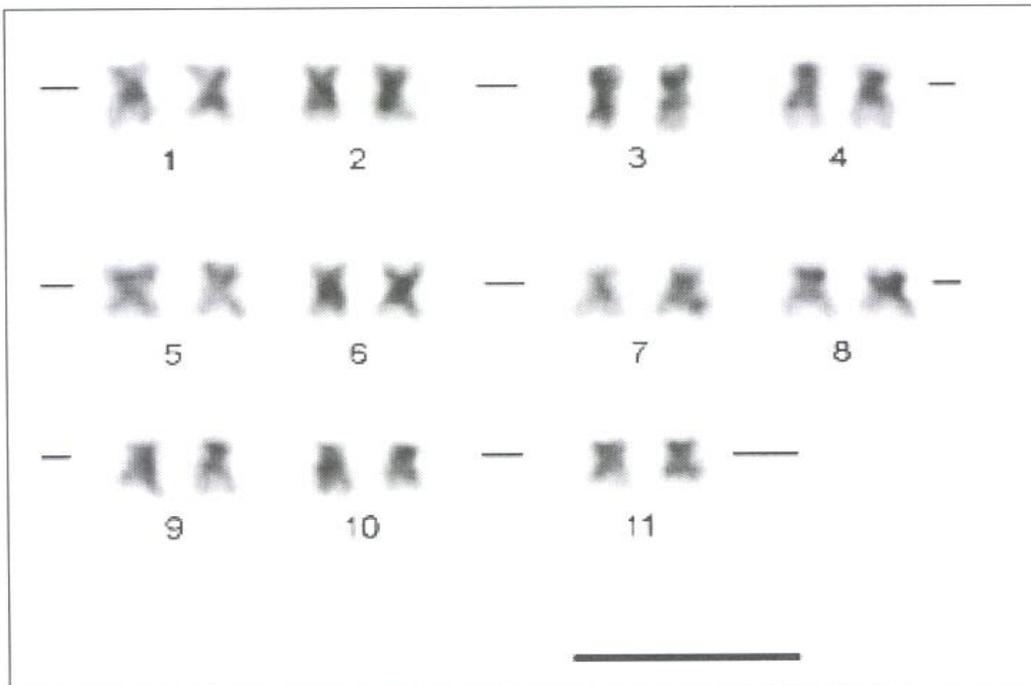


Figura 8. Cromossomos de *Jatropha curcas*. Formação dos pares 1-2, 3-4, 5-6, 7-8 e 9-10, que são citogeneticamente idênticos. Os cromossomos 1, 2, 5, 6 e 11 são metacêntricos, e os 3, 4, 7, 8, 9 e 10, submetacêntricos. Barra=5 μ m

Fonte: Carvalho et al. (2008).

4.3. Herdabilidade de caracteres relacionados à produtividade de *Jatropha curcas*

Os principais objetivos do melhoramento de plantas oleaginosas é a obtenção de cultivares homogêneas, estáveis, produtivas, com elevado teor de óleo, maior tolerância a pragas e doenças, maior adaptabilidade a diversas condições climáticas, etc. No caso específico do pinhão-manso, além das características citadas, a maturação uniforme dos frutos em cada inflorescência e o maior número de frutos por cacho seriam outras características de grande interesse para o melhoramento, uma vez que a uniformidade dessas características facilitaria a colheita. Nesse sentido, é necessário a busca por informações relacionadas a estrutura genética, herdabilidade, repetibilidade, entre outras, para se dar andamento aos programas de melhoramento genético da cultura. A partir dessas informações, o melhorista terá maior facilidade em definir as

estratégias de seleção e melhoramento adequadas para atingir seus objetivos finais.

No melhoramento de espécies perenes, estimativas de herdabilidade têm papel importante na definição de quanto da variação de uma determinada característica é de origem genética, ou seja, é herdável, ou ocorre devido aos efeitos ambientais. Os ganhos genéticos no melhoramento de perenes depende do tipo e do grau de variabilidade genética. No pinhão-manso, escassas são as informações da estrutura genética e herdabilidade das características a serem melhoradas. Recentemente, na Índia, alguns trabalhos para o conhecimento da variabilidade e diversidade de alguns acessos de *J. curcas* têm sido desenvolvidos (GINWAL et al., 2004, 2005; KAUSHIK et al., 2007; RAO et al., 2008).

Na Índia, vários institutos de pesquisa vêm unindo esforços para a seleção de plantas de pinhão-manso superiores, de vários estados. Estas são selecionadas de acordo com algumas características morfológicas, como: altura da planta, altura do caule antes das ramificações, formato da copa, características morfológicas de sementes e plântulas. As sementes dessas plantas selecionadas são colhidas e distribuídas aos institutos de pesquisa que trabalham em rede, para os experimentos pertinentes à cultura (PARAMATHMA et al., 2007a,b). Como o pinhão-manso é uma espécie alógama, e os trabalhos de melhoramento estão apenas começando, espera-se encontrar variabilidade disponível para as características de fase vegetativa e reprodutiva, o que permitirá que os trabalhos de seleção sejam realizados pelos melhoristas. A variabilidade genética relacionada a características morfológicas, produtividade e teor de óleo em *Jatropha* pode ser um grande potencial nos programas de melhoramento de perenes, particularmente na seleção de genótipos mais produtivos e com maior teor de óleo.

Ainda nesse país, foi observada ampla variação em genótipos de pinhão-manso originados de diversas regiões quando avaliados para características relacionadas a morfologia de frutos e sementes, teor e composição do óleo (Tabela 3). Ensaio de avaliação de progênies estão em andamento para a seleção de material-elite a ser incorporado ao programa de melhoramento genético de *Jatropha curcas* (PARAMATHMA et al., 2007b).

Tabela 3. Variabilidade observada em genótipos de pinhão-manso de diversas localidades da Índia para características de morfologia de frutos e sementes, teor e qualidade do óleo.

Característica	Teor
Teor de óleo na semente (%)	8,70 – 36,01
Teor de óleo no albúmen (%)	30,06 – 66,94
Teor de proteína da semente (%)	22 - 38
Germinação (%)	15,20 – 86,00
Matéria seca de plântulas (g)	1,28 – 1,78
Ácidos Graxos (%)	
ácido linoleico	41 – 46
ácido oleico	35 – 40
ácido palmítico	12 - 15
ácido esteárico	3 - 5
Nº de frutos por inflorescência	8 - 22
Peso de 100 frutos (g)	160,94 – 322,24
Comprimento fruto (cm)	2,24 – 2,79
Largura fruto (cm)	1,91 – 2,22
Peso de 100 sementes (g)	30,29 – 70,81
Comprimento semente (cm)	1,29 – 1,88
Largura semente (cm)	1,07 – 1,17

Fonte: Adaptado de Paramathma et al. (2007c)

No Brasil, a Epamig-URENM está iniciando trabalhos de melhoramento com *J. curcas*. Foram selecionadas plantas superiores de aproximadamente três anos de idade, em relação à produtividade, originadas de 11 localidades diferentes do Norte de Minas. As sementes dessas plantas foram colhidas e estão sendo avaliadas na forma de famílias de meios-irmãos (FMI). Em parceria com empresa privada, plantas superiores também foram selecionadas de acordo com algumas características de interesse, as quais também estão sendo avaliadas como FMI.

Outros autores também avaliaram a diversidade genética de pinhão-manso de diferentes localidades, para características relacionadas a morfologia de sementes (Tabela 4) e teor de óleo (Tabela 5). Todos os trabalhos indicam que há variabilidade significativa nas características avaliadas. Ginwal et al. (2005) observaram cores distintas para as sementes de pinhão-manso, e as classificaram em dois grupos: o primeiro, representado por sementes pretas, e o segundo, por sementes marrons.

Tabela 4. Variabilidade comparativa observada em genótipos de pinhão-manso de diversas localidades da Índia por diferentes autores, para características relacionadas à morfologia de sementes

Características morfológicas de sementes	Paramathma et al., 2007c	Ginwal et al., 2004, 2005	Kaushik et al., 2007	Rao et al., 2008
Peso de 100 sementes (g)	30,29 – 70,81	29,50 – 39,10	49,20 – 69,20	56,98 – 79,09
Comprimento semente (cm)	1,29 – 1,88	1,75 – 1,86	1,6 – 1,76	1,55 – 1,87
Largura semente (cm)	1,07 – 1,17	1,08 – 1,13	1,01 – 1,09	1,77 – 2,25
Espessura semente (mm)		8,47 – 9,14	7,24 – 8,33	

FONTE: Adaptado de Paramathma et al. (2007c).

Tabela 5. Variabilidade comparativa observada em genótipos de pinhão-manso de diversas localidades da Índia por diferentes autores, para características relacionadas a teor de óleo

Autores	Teor de óleo na semente (%)	Teor de óleo no albúmen (%)	Nº acessos avaliados	Origem
Ginwal et al., 2004, 2005	33,02 – 39,12	46,22 – 58,12	10	Índia
Pant et al., 2006	-	23-45%	6	Índia
Kaushik, 2006	35,02 – 42,07	-	210	Índia
Lal e Mehera, 2006	31,32– 35,17	-	4	Índia
Kaushik et al., 2007	28,00 – 38,80	-	24	Índia
Patolia et al., 2007	26,00 – 35,00	-	23	Índia
Sharma, 2007	29,00 – 39,00	-	7	Índia
Manurung, 2007	28,00 – 34,00	-	10	Indonésia
Shekhawat et al., 2007	28,00 – 36,00	-	8	Índia
Rao et al., 2008	29,85 – 37,05	-	32	Índia
Paramatha	8,70 – 36,01	30,06 – 66,94	-	Índia
Juhász, 2008	23,52 – 42,83	-	70	Brasil

Obs.: Os dados de Pant et al. (2006), Patolia et al. (2007), Sharma (2007), Manurung (2007) e Shekhawat et al. (2007) foram citados por Jongschaap et al. (2007).

Herdabilidade de 99% para teor de óleo em sementes de *Jatropha* foi estimada por Kaushik et al. (2007) e Rao et al. (2008). Esse valor de herdabilidade reflete predominância de variação herdável para essa característica, o que pode promover ganhos genéticos significativos com a seleção. Kaushik et al. (2007) estimaram para teor de óleo ganho genético de 18,19%, e Rao et al. (2008), 7,21 % de ganho com a seleção. Além disso, o teor de óleo foi positiva e significativamente correlacionado com o peso de sementes, porém teve correlação significativa e negativa com comprimento de sementes (KAUSHIK et al., 2007; RAO et al., 2008). Conteúdo de óleo da semente e albúmen teve correlação positiva significativa com peso de sementes, altura de plantas e diâmetro do colo; foi negativa apenas para número de ramos por planta (GINWAL et al., 2004).

Kaushik et al. (2007) e Rao et al. (2008) estimaram valores de herdabilidade para comprimento, largura, peso de 100 sementes e teor de óleo das sementes (Tabela 6).

Tabela 6. Herdabilidade comparativa observada em genótipos de pinhão-manso de diversas localidades da Índia por Kaushik et al. (2007) e Rao et al. (2008), para características de semente e teor de óleo

Características	Kaushik et al. (2007)		Rao et al. (2008)	
	Herdabilidade	Ganho genético	Herdabilidade	Ganho genético
Teor de óleo na semente	99	18,19	99,61	7,21
Peso de 100 sementes	96	18	93,16	4,22
Comprimento semente	77	4,42	82,14	3,87
Largura semente	57	3,10	77,77	4,98

Rao et al. (2008) obtiveram estimativas de herdabilidade superior para comprimento, largura e teor de óleo de sementes. Kaushik et al. (2007) estimaram ganho genético superior para teor de óleo nas sementes, peso de 100 sementes e comprimento de sementes em relação aos estimados por Rao et al. (2008). Esses dados mostram que para essas características avaliadas houve predominância de variação herdável, o que deve promover ganhos genéticos satisfatórios com a seleção de materiais superiores.

Ginwal et al. (2005) estimaram a herdabilidade para diversas características relacionadas à fase inicial de germinação de pinhão-manso. Os valores de herdabilidade foram elevados para viabilidade de semente (85%), porcentagem de germinação (96%) e vigor (98%), quando avaliados em laboratório. Valores semelhantes foram obtidos para as mesmas características quando avaliadas em viveiro. Quanto à sobrevivência de plântulas, a herdabilidade foi de 51% e de 66% para plantas com um e seis meses de idade, respectivamente. Valores semelhantes de herdabilidade (56%) foram relatados para taxa de sobrevivência em plantas com 24 meses de idade. Já com 12 meses, a herdabilidade foi baixa (39%) para sobrevivência (GINWAL et al., 2004).

Características relacionadas ao desenvolvimento vegetativo de plantas de pinhão-manso foram avaliadas por Ginwal et al. (2004), Ginwal et al. (2005), Lal e Mehera (2006) e Rao et al. (2008), conforme Tabela 7. Houve grande variação das características

avaliadas pelos autores, o que indica a existência de variabilidade genética também para essas características.

Tabela 7. Características relacionadas ao desenvolvimento vegetativo de plantas de pinhão-manso aos 6, 12, 24 e 34 meses (GINWAL et al., 2004, 2005; LAL; MEHERA, 2006; RAO et al., 2008)

Características	6 meses (Ginwal et al., 2005)	12 meses (Ginwal et al., 2004)	24 meses (Ginwal et al., 2004)	24 meses (Lal e Mehera, 2006)	34 meses (Rao et al., 2008)
Altura de plantas (cm)	40,94 – 53,33	76,20 – 101,50	169,6 – 205,5	110 – 160	87,31 – 134,00
Diâmetro do colo (mm)	13,46 – 18,97	28,26 – 35,59	34,01 – 41,78	42,10- 66,00	
Número de ramos		1,98 – 2,73	2,34 – 4,26	5,35 – 10,20	4 – 12,25
Sobrevivência no campo (%)	96,67 – 99,04	77,78 – 94,45	69,45 – 88,89		

Herdabilidade para altura de plantas foi alta tanto para avaliação aos seis meses de idade (89%) (GINWAL et al., 2005), 12 meses (69%) e 24 meses (97%) (GINWAL et al., 2004) e aos 34 meses (88%) (RAO et al., 2008). Deve-se ressaltar que Ginwal et al. (2004) observaram aumento da herdabilidade em relação à altura das mesmas plantas de um ano para o outro de avaliação. Dessa forma, podem-se obter ganhos satisfatórios com a seleção direta para altura de plantas. Entretanto, Abreu et al. (2007) estimaram herdabilidade baixa para as características altura de plantas (6%), altura da primeira folha (19%), diâmetro do caule (13%) e número de folhas (28%), de plantas de dez acessos de pinhão-manso, na fase juvenil (avaliação aos três meses de idade), cultivadas no município de Chapadão do Sul (MS). A herdabilidade no sentido amplo foi baixa, o que indica herança quantitativa dos caracteres avaliados e dificuldades de ganhos genéticos com a seleção precoce.

De acordo com o exposto, é possível verificar que ocorre variabilidade genética para as características avaliadas, o que permite o início dos programas de melhoramento genético. Contudo, poucas informações estão disponíveis quanto à herança de características de

interesse, além de muitas delas possuírem grande influência ambiental, como as características relacionadas à produção. Assim, é necessário haver programas de melhoramento em todas as regiões em que o pinhão-manso possa ser uma cultura de interesse. Por ser uma cultura perene, a avaliação das plantas deve ser feita por um período maior de tempo, a fim de obter dados confiáveis a respeito das características avaliadas.

Outro objetivo de avaliações consecutivas, repetidas ao longo dos anos, é o estudo de correlação entre as características avaliadas na fase inicial de desenvolvimento, ou ainda das avaliadas nas primeiras floradas, em relação à produção de plantas maduras, consideradas “estáveis” em relação à produtividade. Se for possível a identificação de características com alta correlação entre as duas fases, será útil para reduzir o tempo de avaliação da cultura durante os próximos programas de melhoramento genético. Se a correlação for alta, a seleção poderá ser realizada precocemente para a característica de interesse, uma vez que essa superioridade na fase inicial de desenvolvimento será mantida.

5. Divergência genética

A escolha apropriada de progenitores que possibilitem a obtenção de progênes superiores é essencial para o sucesso rápido em qualquer programa de melhoramento, quando são realizadas hibridações convencionais.

Conceituando de forma simples, divergência genética é a distância genética entre populações, indivíduos ou organismos, com base numa série de características, que podem ser morfoagronômicas, fisiológicas, bioquímicas, polimorfismos de DNA, entre outras, que for de interesse do melhorista (AMARAL JÚNIOR; THIÉBAUT, 1999).

A análise de divergência genética é uma técnica para identificar pais adequados à obtenção de híbridos com maior efeito heterótico e maior heterozigose, de tal forma que, em suas gerações segregantes, obtenha-se maior possibilidade de recuperação de genótipos superiores (CRUZ et al., 2004).

A heterose é a superioridade dos híbridos sobre a média dos pais, sendo proporcional à distância genética entre seus respectivos pais. Isso se deve ao fato de os pais não distantes geneticamente entre si tenderem a compartilhar muitos genes ou alelos em comum; quando essa distância é maior, eles diferem de forma crescente no número de locos em que os efeitos da dominância estão evidentes, contribuindo, conseqüentemente, para a maior manifestação da heterose (CRUZ; CARNEIRO, 2006).

Assim, para que os resultados de um programa de hibridação sejam conseguidos de forma rápida e fácil, a população a ser selecionada deve possuir divergência genética e alto desempenho médio, permitindo concentrar esforços naquelas combinações que apresentem maiores chances de sucesso (MALUF; FERREIRA, 1983). Com isso, seria necessária a realização de um número menor de cruzamentos, economizando tempo e mão de obra.

A divergência genética tem sido avaliada por meio de técnicas biométricas, baseadas na quantificação da heterose. Dentre esses métodos, as análises dialélicas são bastante utilizadas, em que se avalia tanto a capacidade específica de combinação quanto a heterose manifestada nos híbridos. No entanto, se for necessária a avaliação de um número elevado de progenitores, o estudo pode ser impraticável, devido à grande quantidade de híbridos a serem obtidos (CRUZ et al., 2004).

Desse modo, a avaliação da divergência genética por métodos preditivos tem sido mais utilizada, por não ser necessária a utilização de combinações híbridas. Esses métodos são baseados em diferenças morfológicas, fisiológicas, entre outras, apresentadas pelos progenitores na determinação da divergência genética, que geralmente é quantificada por uma medida de dissimilaridade, podendo ser aplicados vários métodos multivariados, como a análise de componentes principais, variáveis canônicas e análise de agrupamento. Este último depende diretamente das medidas de dissimilaridades estimadas, enquanto os outros dois avaliam a similaridade dos progenitores por intermédio de uma dispersão gráfica (CRUZ et al., 2004).

A escolha do método multivariado mais adequado tem sido determinada pelo objetivo que se quer alcançar, pela precisão

desejada, pela facilidade da análise e pela forma como os dados foram obtidos.

5.1. Medidas de dissimilaridade

Medidas de dissimilaridade são de grande importância em estudos de divergência genética em que se procuram identificar genitores a serem utilizados em programas de hibridação. Dessa forma, o primeiro passo para se realizar a análise multivariada com base em métodos de aglomeração é a obtenção da matriz de dissimilaridade entre os genótipos, que, de maneira geral, variam em relação ao tipo da variável disponível, que podem ser quantitativas ou qualitativas, sendo esta última subdividida em binárias ou multicategóricas.

5.1.2. Variáveis quantitativas

As variáveis quantitativas são aquelas que podem ser mensuradas, ou seja, representadas pelo seu valor numérico. Além disso, podem ser contínuas, ou seja, assumem quaisquer valores entre certos limites, ou discretas, que, por outro lado, assumem apenas valores específicos não observados em uma escala contínua (AMARAL JÚNIOR; THIÉBAUT, 1999).

Para essas características, as medidas de distância (medidas de dissimilaridade) mais utilizadas são a distância euclidiana média e a distância generalizada de Mahalanobis, sendo esta a mais precisa, uma vez que considera a covariância residual entre as variáveis sob análise, porém possível de ser estimada apenas quando há ensaios experimentais com repetição (CRUZ et al., 2004).

5.1.3. Variáveis qualitativas

As variáveis qualitativas são aquelas que expressam relações mutuamente exclusivas, ou seja, não mensuráveis, e necessitam de uma codificação. Podem ser binárias ou multicategóricas (AMARAL JÚNIOR; THIÉBAUT, 1999).

5.1.3.1. Variáveis binárias

Nesta categoria incluem-se as características qualitativas de ausência ou presença de uma dada característica. Como exemplo, tem-se o comportamento de padrões genotípicos em estudos moleculares,

que se expressam pela presença ou ausência de marcas (bandas) no gel, cuja codificação pode ser efetuada por meio de um, indicando presença, ou zero, indicando ausência. Outro exemplo seria o resultado negativo (zero) ou positivo (um) de uma reação bioquímica. O resultado pode ser sumarizado numa tabela de dupla entrada, como ilustrado a seguir (AMARAL JÚNIOR; THIÉBAUT, 1999):

Indivíduo		B	
		1	0
A	1	a	b
	0	c	d

- a: valor que quantifica o número de coincidências do tipo 1-1 para cada par de genótipo (concordância positiva).
- b: valor que quantifica o número de discordâncias do tipo 1-0 para cada par de genótipo.
- c: valor que quantifica o número de discordâncias do tipo 0-1 para cada par de genótipo.
- d: valor que quantifica o número de coincidências do tipo 0-0 para cada par de genótipo (concordância negativa).

Dessa forma, a distância euclidiana média pode ser calculada por meio da expressão:

$$d_{ii'} = \sqrt{\frac{1}{v} \sum_j (Y_{ij} - Y_{i'j})^2} = \sqrt{\frac{b + c}{a + b + c + d}}$$

A diversidade genética de variáveis binárias pode ser avaliada ainda por coeficientes de similaridade entre todos os pares de genótipos possíveis; existem várias medidas de similaridade citadas na literatura (CRUZ; CARNEIRO, 2006).

5.1.3.2. Variáveis multicategóricas

As variáveis qualitativas multicategóricas são aquelas características que possuem mais de duas classes, mutuamente

exclusivas, mas que não se apresentam numa sequência lógica de graus de atributo (AMARAL JÚNIOR; THIÉBAUT, 1999).

No melhoramento vegetal, as características multicategóricas avaliadas podem ser relacionadas à morfologia e estrutura das plantas, além das características relacionadas aos frutos, como formato, cor do tegumento, sabor do fruto, etc. São também muito úteis para o melhoramento como no caso de caracterização de acessos de banco de germoplasma, para que se tenha conhecimento das características de cada um, permitindo assim uma busca de caracteres de interesse a serem adicionados às cultivares comerciais. Desse modo, facilita também a escolha de caracteres mais relevantes na caracterização, uma vez que nesse tipo de avaliação são muitos os caracteres avaliados.

O interessante dessa análise é que se pode avaliar um grande número de características simultaneamente, em que cada uma pode apresentar várias classes. Para isso, é necessário um índice, que leva em consideração a ocorrência de concordâncias e discordâncias de valores. Por exemplo, considerando uma característica que possua três classes, têm-se três tipos de concordância (1-1, 2-2 e 3-3) e seis de discordância (1-2, 1-3, 2-1, 2-3, 3-1 e 3-2).

5.2. Métodos multivariados

O estudo de diversidade genética através de métodos multivariados pode ser realizado por meio de análise de componentes principais, variáveis canônicas e análise de agrupamento; este último depende diretamente das medidas de dissimilaridades estimadas.

A análise de agrupamento constitui uma metodologia numérica multivariada, com o objetivo de propor uma estrutura classificatória ou do reconhecimento da existência de grupos. Seu resultado final é um gráfico em forma de árvore, denominado de dendrograma, que representa uma síntese gráfica dos resultados.

Para a apresentação do agrupamento, vários métodos podem ser utilizados, cada um dos quais podendo conduzir a diferentes padrões de agrupamento. Esses métodos classificam-se, basicamente, em hierárquicos e de otimização. Nos métodos hierárquicos, os progenitores são agrupados por um processo que se repete em vários níveis até que seja estabelecido o dendrograma ou o diagrama de

árvore. No melhoramento, os métodos mais utilizados são: o do vizinho mais próximo e o do vizinho mais distante. Já quanto aos métodos de otimização, o de Tocher é o mais comumente empregado no melhoramento genético (CRUZ et al., 2004).

5.3. Diversidade genética de pinhão-mansão (*J. curcas* L.)

Estudos sobre a diversidade genética em pinhão-mansão vêm sendo realizados no Brasil (ABREU et al., 2007) e na Índia (GINWAL et al., 2004, 2005; KAUSHIK et al., 2007; RAO et al., 2008). Abreu et al. (2007) avaliaram a diversidade genética de 10 acessos de pinhão-mansão na fase juvenil, sendo nove originários de diferentes estados do País e um do Paraguai. De acordo com as características morfológicas avaliadas, os acessos foram agrupados em dois grupos distintos, os quais podem gerar significativa heterose quando inter cruzados. Ginwal et al. (2004, 2005) também relatam a ocorrência de diferença genética entre 10 acessos de pinhão-mansão de diferentes regiões da Índia. Grandes diferenças para os componentes de variância relacionados aos parâmetros de germinação de sementes, desenvolvimento de plântulas, fase vegetativa e reprodutiva dos acessos avaliados foram descritas pelos autores.

Kaushik et al. (2007) agruparam 24 acessos de pinhão-mansão na Índia, originados de 24 árvores superiores, em seis grupos divergentes, utilizando Distância Euclidiana Média. Trinta e dois acessos de pinhão-mansão de origem indiana avaliados por Rao et al. (2008) foram agrupados em quatro diferentes grupos, utilizando a Distância Euclidiana Média, para as características de morfologia de sementes. Em relação às características vegetativas e reprodutivas, os mesmos acessos foram agrupados em cinco grupos divergentes. Dessa forma, o inter cruzamento envolvendo os grupos mais divergentes tem o objetivo de promover maior segregação das características em análise, aumentando a variabilidade genética da espécie e favorecendo a seleção de tipos superiores pelos melhoristas.

5.4. Diversidade genética molecular de pinhão-mansão (*J. curcas* L.)

O estudo da diversidade visa elucidar relações genéticas, quantificar ou prever o nível de variabilidade total existente e a sua distribuição entre e/ou dentro de unidades taxonômicas, quer elas

sejam indivíduos, acessos de banco de germoplasma, linhagens, cultivares, populações de sistemas controlados de acasalamento ou naturais, e espécies. Esse conhecimento tem proporcionado importantes contribuições ao melhoramento genético, ao gerenciamento de bancos de germoplasma, à conservação de recursos genéticos e ao entendimento dos processos evolutivos das espécies.

A quantificação da diversidade genética auxilia no planejamento de estratégias mais eficazes que venham a maximizar os ganhos genéticos no melhoramento. Dentre as possibilidades de estudos da diversidade (MOHAMMADI; PRASNNA, 2003; REIF et al., 2005), destaca-se a determinação das inter-relações genéticas entre linhagens, cultivares e populações; identificação de combinações parentais adequadas à obtenção de híbridos altamente heteróticos e que possibilitem maior segregação em recombinações, com o aparecimento de transgressivos; introgressão de genes favoráveis provenientes dos acessos de bancos de germoplasma, componentes da base genética da espécie-alvo; e identificação de variedades derivadas no processo de proteção de cultivares.

Nos bancos de germoplasma, a análise da diversidade pode ajudar a classificar corretamente um acesso, identificar duplicatas e subgrupos de coleções-núcleo e auxiliar na quantificação do nível de variabilidade presente em um *pool* gênico, bem como seu fluxo através do tempo (REIF et al., 2005).

Atualmente, existem muitos métodos disponíveis para o estudo da diversidade genética, seja em avaliações de acessos de bancos de germoplasma, cultivares melhoradas ou populações. Esses métodos podem ser aplicados na análise de dados de *pedigree*, dados morfológicos, dados de desempenho agrônômico, dados bioquímicos e dados moleculares baseados na análise de DNA.

A utilização de marcadores moleculares de diversos tipos tornou possível a identificação e caracterização de germoplasma, a construção de mapas genéticos e a estimativa da distância genética entre indivíduos e/ou populações de várias espécies vegetais. Tais tecnologias podem contribuir para acelerar ganhos genéticos em plantas de interesse, especialmente em culturas cujas informações ainda sejam limitadas, como é o caso da maioria das espécies tropicais arbóreas (FERREIRA; GRATAPAGLIA, 1998; PICOLI et al.,

2001). De modo semelhante, as informações de diversidade e distância genética têm sido avaliadas para a identificação das melhores combinações híbridas e na organização de bancos de germoplasma, indicando redundâncias e deficiências das coleções, além de gerar dados sobre a eficiência do processo de coleta, manutenção e ampliação do banco de germoplasma (BARBOSA-NETO; BERED, 1998).

O desenvolvimento de marcadores bioquímicos e moleculares proporcionou um salto qualitativo e quantitativo em estudos da estrutura populacional e do sistema produtivo de diversas espécies. Vários parâmetros populacionais, como grau de endogamia e sistema reprodutivo predominante, entre outros, podem ser obtidos e são de grande importância na determinação de estratégias de conservação da variabilidade genética na natureza, bem como para sua melhor utilização em programas de melhoramento genético das espécies (REIF et al., 2005).

Barbosa-Neto e Bered (1998) argumentaram que não há restrições quanto aos marcadores moleculares preferenciais para utilização em estudos de diversidade genética. De modo geral, os marcadores devem ser confiáveis em termos de repetibilidade, ter baixo custo e ser fáceis e rápidos de analisar, além de permitirem uma amostragem extensiva dos genomas provenientes de DNA, sem a influência do ambiente. Nesse sentido, os marcadores baseados em técnicas de PCR (reação em cadeia da polimerase) são mais atrativos, principalmente aqueles que apresentam grande quantidade de polimorfismo. Marcadores baseados na técnica de isoenzimas também estão sendo utilizados, porém em menor frequência (BORÉM; CAIXETA, 2006).

Os marcadores moleculares podem ser classificados em dois tipos principais: marcadores codominantes - RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), microssatélites ou SSR (*Simple Sequence Repeats*) e SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*); e marcadores dominantes - RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) e ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*).

Dentre os marcadores de DNA baseados em PCR, os que têm sido mais usados para a cultura de pinhão-mansão são o RAPD e o

ISSR. Ambos apresentam a característica de dominância, ou seja, estes tipos de marcadores não permitem distinguir indivíduos homozigotos de heterozigotos. A técnica RAPD apresenta as vantagens de: simplicidade, fácil obtenção de dados, custo relativamente reduzido em relação a outras técnicas moleculares e aplicabilidade imediata a qualquer tipo de organismo, sem a necessidade de conhecimento prévio do seu genoma, porém pode apresentar baixa reprodutibilidade. A técnica de ISSR também apresenta todas as vantagens citadas para a técnica de RAPD, mais um elevado grau de reprodutibilidade, resultante do comprimento dos *primers* empregados (16 a 25 pb) e de condições de anelamento mais estridentes (com temperaturas entre 45° C e 60° C) (BORÉM; CAIXETA, 2006).

Poucos trabalhos sobre a diversidade genética do pinhão-mansô por marcadores moleculares têm sido encontrados na literatura, principalmente com relação aos acessos brasileiros. Na Índia, a caracterização molecular e a quantificação da diversidade genética dos acessos de *Jatrophas* estão mais avançadas.

Basha e Sujatha (2007) avaliaram 42 acessos de *J. curcas* L. de diferentes regiões da Índia. Esses autores usaram *primers* RAPD e ISSR para determinar a diversidade genética desses acessos e concluíram pela necessidade imediata de aumentar a base genética do pinhão-mansô naquele país, devido à baixa diversidade genética encontrada entre os acessos. Ainda encontraram algumas marcas específicas para determinadas regiões, conseguindo diferenciar especificamente materiais com origens diversas.

Ranade et al. (2008) analisaram a diversidade genética de 12 diferentes acessos de *J. curcas*, sendo estes oriundos de diferentes coleções (banco de germoplasma) da Índia, das regiões: NBRI, BSI, Melli (região Nordeste), Lalkuan e Bhubaneshwar. Foram utilizados os *primers* RAPD e DAMD. De acordo com o resultado da análise de diversidade genética, os acessos oriundos da região Nordeste foram os que demonstraram maiores distâncias genéticas, enquanto os das coleções de NBRI, Bhubaneshwar e Lalkuan foram mais similares entre eles. O dendrograma obtido a partir dos dados das distâncias genéticas entre os pares de acessos pelo método não ponderado de agrupamento de pares utilizando a média aritmética (UPGMA)

mostrou claramente a formação de grupos de acordo com a origem das coleções: NBRI, Bhubaneshwar, Nordeste e Lalkuan. Esse trabalho sugeriu que as introduções de novos acessos nas coleções, realizadas recentemente, foram adequadas para aumentar a diversidade genética dos acessos de *J. curcas* na Índia e que a utilização de acessos selvagens (sem registro de procedência e *pedigree*) pode não ser a melhor fonte de material genético para cultivo e como genitores em programas de melhoramento. Além disso, os autores concluíram também que os marcadores moleculares utilizados são úteis para uma rápida avaliação de acessos e que oferecem ferramentas importantes para analisar a diversidade dentro das coleções.

Ram et al. (2008) avaliaram a diversidade genética de 12 espécies de *Jatropha* com base em marcadores do tipo RAPD. A partir da amplificação de 18 *primers* RAPD, foi possível a obtenção de 112 bandas polimórficas; os *primers* OPA 4, OPF 11 e OPD14 foram os que mais contribuíram, gerando padrões de 100% de polimorfismo. A similaridade genética, calculada pelo coeficiente de Jaccard, variou de 0,00 a 0,85, indicando alto nível de variabilidade genética entre os genótipos estudados. Pela análise de agrupamento, foram formados três grupos distintos: um com todos os acessos de *J. curcas* L., outro com outras cinco espécies (*J. ramanadensis*, *J. gossypifolia*, *J. podagrica*, *J. tanjorensis* e *J. villosa*) e um terceiro com as espécies *J. integerrima* e *J. glandulifera*. Esta última apresenta uma vasta distribuição na Índia, comparada com as demais espécies estudadas, além de possuir características morfológicas distintas. A inclusão de seis espécies em um grupo também se justifica pelo fato de que estas espécies apresentam características morfológicas semelhantes. A distinção molecular de todos os acessos de *J. curcas*, formando um grupo distinto, sustenta os estudos taxonômicos de gênero, no qual Dehgan e Webster (1979) sugeriram que *J. curcas* L. foi o ancestral primitivo da espécie, devido à sua morfologia distinta, e que as demais espécies evoluíram a partir dela e de outras formas ancestrais.

Também para avaliar o grau de variabilidade genética existente entre as espécies de *Jatropha* da Índia e estabelecer uma relação filogenética, Pamidiamarri et al. (2008a) utilizaram 12 exemplares das espécies *J. curcas*, *J. glandulifera*, *J. gossypifolia*, *J. integerrima*, *J. multifida*, *J. podagrica* e *J. tanjorensis*, utilizando

marcadores moleculares do tipo RAPD e AFLP. A porcentagem de locos polimórficos encontrada entre as espécies estudadas foi de 97,74% e 97,25%, usando *primer* RAPD e AFLP, respectivamente, indicando alta diversidade genética entre as espécies. O maior grau de parentesco encontrado (maior similaridade genética) foi entre as espécies *J. curcas* e *J. integerrima*. Esse resultado explicou, segundo os autores, o sucesso na obtenção de indivíduos híbridos entre as duas espécies. Os dados obtidos tanto com RAPD como com AFLP não corroboram a hipótese de que *J. tanjorensis* seja um híbrido interespecífico natural entre *J. curcas* e *J. gossypifolia*, devido à elevada distância encontrada entre eles.

Além dos estudos de quantificação da variabilidade genética existente entre os genótipos de *J. curcas* e entre esses e outras espécies do gênero, estudos para discriminação entre genótipos de *J. curcas* tóxicos e não tóxico têm sido desenvolvidos. O interesse desses estudos se justifica pelo fato de que o cultivo de variedades não tóxicas de *J. curcas* poderia fornecer petróleo para o biodiesel, e a torta resultante desse processo poderia ser utilizada na alimentação animal. As características morfológicas, qualitativas e quantitativas não são distintas entre os genótipos tóxicos e não tóxicos, exceto para o teor em ésteres forbol presente nos genótipos tóxicos. Dessa forma, Pamidiamarri et al. (2008b) caracterizaram genótipos tóxicos e não tóxicos, oriundos do México, por marcadores moleculares com o objetivo de obter marcas específicas a cada um dos genótipos para posterior uso de seleção assistida por marcadores moleculares (SAM) em programas de melhoramento. Quando os autores amplificaram genótipos tóxicos e não tóxicos com marcadores de RAPD e AFLP, foi possível obter 56 (15,09%) marcas de RAPD e 238 (16,49%) marcas de AFLP específicas para um dos genótipos. A similaridade genética entre os genótipos tóxicos e não tóxicos foi de 0,9, o que indica baixa diversidade genética entre eles. No mesmo trabalho, também foram testados 12 marcadores microssatélites, sendo que sete deles apresentaram polimorfismo entre os genótipos analisados. Desses, destacou-se o *primer* jcms21, por amplificar um alelo em homozigose nos genótipos tóxicos. Assim, esse marcador poderá ser utilizado com grande eficiência em uma seleção assistida.

No Brasil, são poucos os trabalhos de caracterização e análise de diversidade genética de acessos de *J. curcas* por meio de marcadores moleculares. Oliveira et al. (2006) utilizaram 15 acessos de *J. curcas*, sendo dez do Estado de Minas Gerais, três de Goiás, um de Sergipe e um do Espírito Santo – além desses, mais nove acessos do gênero *Jatropha*, coletados no Estado de Sergipe. Dos 14 *primers* de RAPD, foram obtidas 36 bandas polimórficas, sendo a similaridade máxima de 83% entre um acesso de Minas Gerais e um de Goiás. Já a menor similaridade (10%) foi encontrada entre um acesso do gênero de *Jatropha* de Sergipe e os demais acessos. Dessa forma, os autores inferiram uma alta diversidade genética entre os acessos avaliados. Góis et al. (2006) avaliaram também acessos de *J. curcas* dos mesmos estados de autores anteriores, porém através da técnica de isoenzimas, encontrando acessos altamente similares e outros bem divergentes.

6. Métodos de melhoramento aplicados a *Jatropha curcas*

Até o presente momento, não foram desenvolvidas variedades de *J. curcas*, sendo indispensável que programas de melhoramento genético sejam iniciados a fim de definir os métodos mais adequados a serem utilizados na cultura. Por ser uma espécie perene, os métodos a serem adotados devem ser específicos a culturas desse tipo. Os métodos de uma espécie podem ser caracterizados como uma combinação de estratégias de melhoramento, delineamento de cruzamentos para obtenção das progênes a serem avaliados, métodos de seleção para identificação dos genótipos superiores e métodos de produção de propágulos melhorados.

6.1. Estratégias de Melhoramento

Conforme visto no tópico 1, as estratégias de melhoramento de plantas perenes podem ser resumidas em três: (i) seleção para capacidade geral de combinação (seleção recorrente intrapopulacional - SRI); (ii) seleção simultânea para ambos, capacidade geral de combinação e capacidade específica de combinação (seleção recorrente interpopulacional – SRR); e (iii) seleção clonal.

Se o melhoramento visa caracteres sem dominância alélica, a SRI é suficiente. Contudo, se existe dominância, a SRR e a seleção

clonal são estratégias mais indicadas. A SRR melhora também os efeitos de dominância, os quais podem ser capturados comercialmente via propagação assexuada ou via sementes, porém associados a cruzamentos específicos controlados (plantio de famílias de irmãos completos ou germanos).

A seleção clonal visa à avaliação e identificação de clones originados de várias formas: introdução de germoplasma, indivíduos gerados nos programas de SRI, indivíduos gerados nos programas de SRI, indivíduos oriundos de cruzamentos entre clones-elites.

A Figura 9 apresenta o esquema geral de um programa de SRI, válido para qualquer espécie perene (RESENDE et al., 1995). Partindo-se de uma população-base ou de uma população experimental, a seleção deve ser implementada em diferentes intensidades, visando à constituição da população de produção de propágulos melhorados (sementes ou clones) e da população de melhoramento de longo prazo.

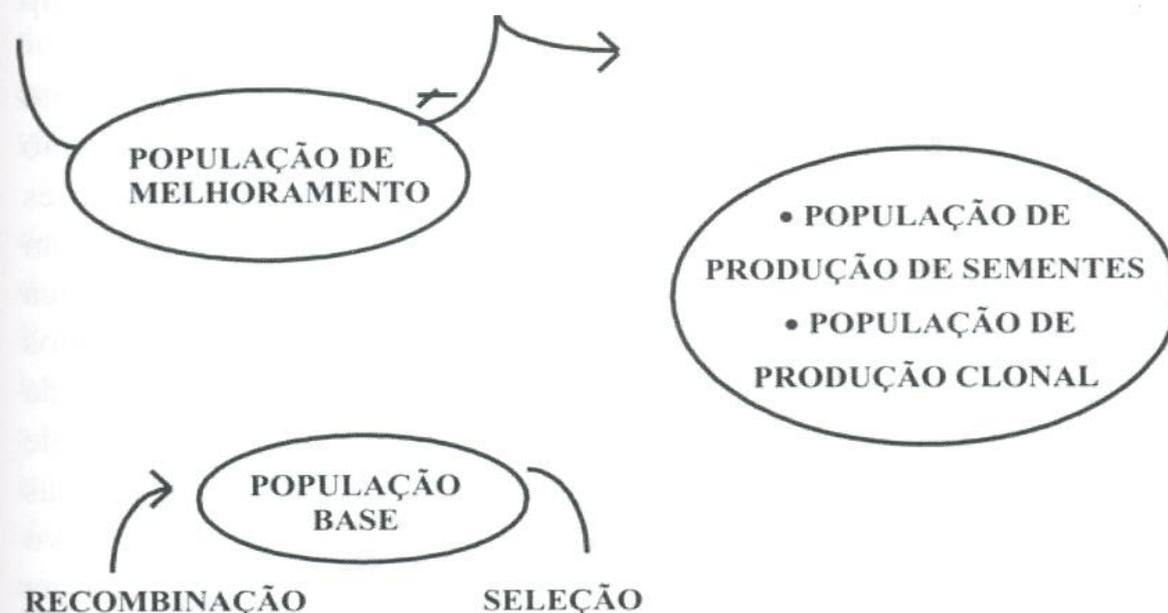


Figura 9. Esquema geral de um programa de melhoramento do pinhão-manso via SRI.

A população de produção pode ser constituída por pomares de sementes (formados por desbaste das plantas não selecionadas no experimento, ou clonagem das plantas para um pomar clonal de

produção de sementes), jardins clonais (visando ao fornecimento de estacas para plantios clonais) ou pomares biclonais (visando a uma alta intensidade de seleção por meio da utilização apenas dos dois melhores indivíduos do experimento), conforme o interesse do melhorista.

Para a constituição dessa população, intensidades de seleção mais altas podem ser adotadas, visando explorar ao máximo a variabilidade genética livre e, portanto, capitalizar o progresso genético imediato. A seleção pode ser intensa, porque não existem grandes restrições quanto ao número de indivíduos a serem recombinados (no caso de população de produção de sementes), devendo-se considerar, contudo, a endogamia potencial advinda de possíveis cruzamentos entre indivíduos aparentados. Existem procedimentos que otimizam a seleção para a composição da população de produção, considerando simultaneamente os valores genéticos dos indivíduos candidatos à seleção, o progresso genético, o tamanho efetivo e a endogamia potencial. Esses procedimentos podem ser realizados por meio do software Selegen-Reml/Blup (RESENDE, 2002, 2007a e b).

Por outro lado, a constituição da população de melhoramento visa ao melhoramento genético em longo prazo, ou seja, o aumento contínuo e progressivo das frequências dos alelos favoráveis, através da implementação de vários ciclos seletivos. O ganho genético em longo prazo depende, fundamentalmente, da variabilidade genética potencial, ou seja, daquela variabilidade que é mantida através dos ciclos seletivos e é liberada através da recombinação, ao final de cada ciclo de seleção. O caminhar seguro (sem risco de perdas de alelos favoráveis) em direção à obtenção do teto seletivo das populações implica a manutenção de um tamanho efetivo populacional (N_e) compatível. Dessa forma, os ganhos genéticos na população de melhoramento devem ser maximizados para uma condição de restrição no tamanho efetivo populacional. Geralmente, um N_e da ordem de 30 é adequado.

Os procedimentos de recombinação estão relacionados à eficiência seletiva de duas maneiras:

- i) em espécies perenes, geralmente a etapa de recombinação coincide com a obtenção de progênies para avaliação no ciclo

- subsequente e, como determinados delineamentos de cruzamento propiciam uma seleção mais acurada, esta fase está relacionada à eficiência seletiva no ciclo subsequente; e
- ii) em espécies perenes, a recombinação pode ser realizada de maneira desbalanceada, com maior ênfase nos indivíduos com maiores valores genéticos. Assim, além da maximização do ganho com base na utilização de métodos acurados de seleção, ganhos adicionais podem ser conseguidos com a utilização de proporção maior de indivíduos melhores, na população de produção, e com a seleção de cruzamentos na população de melhoramento.

Verifica-se, portanto, que a eficiência dos diferentes programas de melhoramento é função dos diferentes procedimentos de seleção e recombinação. Um terceiro fator, não menos importante, refere-se ao tempo despendido para se completar um ciclo seletivo. A eficiência dos programas de melhoramento deve ser medida pelo ganho genético por unidade de tempo. Assim, o intervalo entre gerações (ou seja, o tempo necessário para se completar o ciclo descrito no esquema anterior) desempenha relevante papel no melhoramento de espécies perenes, onde a seleção precoce deve ser uma meta constante.

Quanto à SRR, o método ideal é seleção recorrente recíproca de genitores com híbridos intermediários (SRR-G-HI), conforme descrito por Resende e Barbosa (2005). Esse método foi descrito por Resende e Higa (1990) e baseia-se na seleção dos genitores com base na progênie híbrida entre genitores de duas populações divergentes, seguida por novo direcionamento (via cruzamento dos genitores com maior capacidade geral de combinação com a população recíproca) dos cruzamentos para gerar uma nova população experimental híbrida simultaneamente à recombinação dos genitores. É, portanto, um processo que permite gerar híbridos superiores antes que se complete o ciclo da SRR. Estes são denominados híbridos intermediários (HI) entre o ciclo 0 e o ciclo 1 da SRR. Após a identificação do par de máximo valor em cruzamento, tal par pode ser submetido a um processo de seleção recorrente recíproca individual (SRRI) ou SRR dentro de cruzamento, conforme descrito por Resende e Barbosa (2005).

Em pinhão-manso, Abreu et al. (2009) avaliaram dez acessos e computaram as distâncias genéticas entre procedências, realizando o agrupamento destas. Nesse estudo da divergência genética, os acessos avaliados foram separados em dois grupos distintos: o primeiro com sete acessos similares geneticamente, e o segundo, com três acessos. A separação dos grupos pode ser relacionada com as origens geográficas dos acessos: aqueles alocados no primeiro grupo são originários dos Estados de Minas Gerais e Goiás, e no segundo grupo estão aqueles de origem mais ao sul, dos Estados de São Paulo, Paraná e do Paraguai. Essa separação de acessos em grupos distintos é muito importante para o melhoramento genético. Significa que pode ser obtida heterose para os caracteres quantitativos de interesse econômico quando forem cruzados indivíduos de acessos pertencentes aos diferentes grupos.

Se confirmados os resultados e a presença de heterose, o método ideal de melhoramento será a seleção recorrente recíproca, mantendo isoladas duas populações de melhoramento (formadas por recombinação dos melhores indivíduos dentro de cada agrupamento) e avaliando os híbridos entre elas. A heterose tem sido verificada para a maioria dos caracteres produtivos (herdabilidades baixas) em espécies vegetais perenes (BAUDOUIM et al., 1997).

Quanto à seleção clonal, a estratégia básica do melhoramento de espécies de propagação assexuada baseia-se no cruzamento entre indivíduos superiores, muitos dos quais são cultivares clonais já em uso comercial. Nas progênies híbridas são selecionados novos indivíduos superiores, os quais são denominados clones potenciais. Esses indivíduos são clonados e submetidos a teste clonal em uma ou mais gerações. O esquema básico é apresentado na Figura 10.



Figura 10. Esquema básico da seleção clonal em pinhão-mansó.

6.2. Delineamentos de Cruzamento e Experimentação

A experimentação de campo no melhoramento de plantas perenes envolve basicamente a avaliação das seguintes entidades genéticas: populações, famílias (obtidas segundo determinado delineamento de cruzamento) e clones.

O sucesso de qualquer programa de melhoramento genético depende da avaliação e seleção do germoplasma mais adequado às finalidades e aos objetivos do cultivo das plantas. De maneira geral, os recursos genéticos de cada cultivo são muito amplos e apenas uma pequena parte deles é usada nos programas de melhoramento. A etapa inicial básica de qualquer programa de melhoramento é a seleção das espécies e populações a serem trabalhadas. Esta seleção deve ser fundamentada em testes de espécies e populações, as quais devem ser avaliadas quanto aos caracteres relacionados com o produto de interesse.

A partir da avaliação experimental, a seleção deve basear-se tanto em componentes de médias quanto em componentes de variância. Devem ser selecionados, preferencialmente, materiais genéticos com elevada média e ampla variabilidade genética, que deverá propiciar ganhos genéticos contínuos com seleção ao longo de várias gerações. A importância da média da população e sua variabilidade genética pode ser avaliada, simultaneamente, pela expressão da média da população melhorada dada por $\bar{X}_m = \bar{X}_o + k h_a \sigma_a$, em que \bar{X}_o é a média original da população, h_a é a raiz quadrada da herdabilidade no sentido restrito e σ_a é a raiz quadrada da variância genética aditiva. A seleção da população mais adequada pode ser baseada no maior valor calculado de \bar{X}_m .

A seleção de populações deve considerar também as condições edáficas (tipos de solo) e climáticas (precipitação, déficit hídrico, altitude, latitude, temperatura e classificação climática) das regiões de plantio.

Quanto às famílias a serem avaliadas, os principais delineamentos para gerá-las são o de policruzamento (progênies de meios irmãos), o de pares simples (progênies de irmãos germanos), cruzamentos fatoriais ou dialélicos parciais (progênies de meios-irmãos e de irmãos germanos, simultaneamente). Nas gerações iniciais do melhoramento de plantas perenes, os experimentos mais comuns são aqueles em que são avaliadas: populações, progênies de polinização aberta (meios-irmãos), progênies de polinização aberta pertencentes a várias populações, clones. Em fases mais avançadas, os programas de melhoramento avaliam famílias obtidas sob delineamentos de cruzamentos mais elaborados.

Dentre esses, o policruzamento é adequado para a seleção por valores genéticos aditivos, visando à propagação por sementes. Os outros dois tipos, pares simples e dialélicos parciais, também são adequados para essa finalidade, mas, adicionalmente, são adequados também para a seleção para capacidade específica de combinação e para a seleção clonal. De maneira genérica, esses dois últimos delineamentos são mais eficientes, pois permitem explorar na seleção a maior fração da variação genética entre famílias. Esses contemplam entre famílias 50% da variação genética aditiva e mais 25% da

variância genética de dominância. O policruzamento contempla entre famílias 25% da variância genética aditiva, mas é muito útil nas fases iniciais do melhoramento, associado a métodos de seleção (BLUP individual), que exploram simultaneamente a variação genética entre famílias (25% da variância genética aditiva) e a variação genética dentro de famílias (75% da variância genética aditiva e mais toda a variância genética de dominância). Testes de famílias de meios-irmãos podem ser usados tanto para a seleção visando à produção de sementes melhoradas, quanto para a seleção de clones para compor os testes clonais. A experimentação com famílias deve ser realizada nos delineamentos em blocos ao acaso ou em látice. Geralmente, 30 a 60 indivíduos por família são adequados para propiciar uma alta precisão na seleção (RESENDE, 2002; RESENDE; BARBOSA, 2005).

Os materiais a serem avaliados em testes clonais procedem das populações-base para seleção (testes de progênies), ou de seleção individual em áreas de ocorrência natural ou plantios comerciais. A primeira alternativa é preferível, pois permite maior acurácia nesse primeiro estágio de seleção.

Plantas individuais apresentam maior interação genótipo x ambiente e, portanto, os testes clonais devem ser instalados no maior número possível de ambientes. Dependendo da quantidade de material disponível, os testes clonais poderão ser realizados em dois estágios:

- (i) estágio inicial, visando à eliminação dos clones com menor potencial produtivo; e
- (ii) estágio final ou de recomendação de materiais para plantios comerciais.

O estágio inicial é recomendado quando se dispõe de um grande (mais que 100) número de materiais genéticos para testes. Ele deve ser instalado em parcelas lineares e em um menor número de locais. Por outro lado, o estágio final exige maior rigor experimental, muitas vezes sendo necessária a utilização de parcelas quadradas, com bordadura e com maior número de plantas. Todos esses fatores visam minimizar os efeitos de competição nas avaliações dos clones. Em ambos os estágios, os delineamentos a serem utilizados devem ser o de blocos casualizados (quando o número de materiais for pequeno) ou látice (quando o número de materiais for elevado). Quanto ao

número de plantas por clone, por exemplo, com herdabilidade de 20%, conseguem-se 95% de precisão na seleção empregando em torno de 40 plantas por clone (RESENDE et al., 1995).

Em gerações mais avançadas, a seleção de cruzamentos a ser realizada deve basear-se nos valores genéticos preditos dos indivíduos selecionados – predições estas baseadas em testes de progênies. Para o melhoramento genético intrapopulacional de curto prazo, deve ser dada ênfase aos cruzamentos entre os indivíduos com os maiores valores genéticos, como forma de aumentar a probabilidade de obtenção de indivíduos excepcionalmente superiores nas progênies. Considerando os 10 melhores genitores de uma população, ordenados de acordo com os seus valores genéticos preditos, o delineamento em V (Resende, 2002), apresentado a seguir, permite definir os cruzamentos a serem realizados, quando o número total de cruzamentos é fixado em 25.

Genitor	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1		X	X	X	X	X	X	X	X	X
2			X	X	X	X	X	X	X	
3				X	X	X	X	X		
4					X	X	X			
5						X				

Nesse caso, apenas os melhores cruzamentos são realizados, e os números de cruzamentos por genitor são:

Genitor	N. de Cruzamentos	Genitor	N. de Cruzamentos
1	9	6	5
2	8	7	4
3	7	8	3
4	6	9	2
5	5	10	1

6.3. Métodos de Seleção

A eficiência do melhoramento genético pode ser computada pelo ganho genético esperado com seleção, cuja expressão de cálculo

é dada por $\hat{G}_s = k r_{\hat{g}g} \sigma_g$, em que k é o diferencial de seleção padronizado, $r_{\hat{g}g}$ é a acurácia seletiva e σ_g^2 é a variância genética disponível na população. Essa expressão permite a comparação de métodos de seleção por meio de um só parâmetro: a acurácia. Isso porque σ_g é uma propriedade da população e, portanto, constante através dos métodos de seleção. O coeficiente k também pode ser considerado constante através dos métodos de seleção.

A acurácia refere-se à correlação entre os valores genéticos preditos e os valores genéticos verdadeiros dos indivíduos. Quanto maior a acurácia na avaliação de um indivíduo, maior é a confiança na avaliação e no valor genético predito deste indivíduo. De maneira geral, os valores genéticos preditos não são iguais aos valores genéticos verdadeiros dos indivíduos. A proximidade entre esses dois valores pode ser avaliada com base na estatística denominada acurácia.

Quanto maior a acurácia seletiva, maior o ganho com seleção. Dessa forma, o método ótimo de seleção deve ser aquele que maximiza a acurácia. Esse método é o BLUP individual (RESENDE, 2002). Assim, esse método deve ser aplicado nos experimentos de avaliação de famílias, populações e clones de pinhão-manso, conforme realizado por Abreu et al. (2009).

O BLUP é o procedimento que maximiza a acurácia seletiva e, portanto, é superior a qualquer outro índice de seleção combinada, exceto aquele que usa todos os efeitos aleatórios do modelo estatístico (índice multiefeitos), conforme Resende et al. (1990) e Resende e Higa (1994), o qual é o próprio BLUP para o caso de dados balanceados. O BLUP permite também o uso simultâneo de várias fontes de informação, tais quais aquelas advindas de vários experimentos instalados em um ou vários locais. Para aplicação do BLUP são necessárias estimativas de componentes de variância e de parâmetros genéticos, como a herdabilidade.

O procedimento ótimo de estimação desses componentes de variância é o de máxima verossimilhança residual ou restrita (REML), o qual é superior ao método da análise de variância (ANOVA) em situação de dados desbalanceados e delineamentos não ortogonais (como alguns blocos incompletos). O procedimento ótimo de

avaliação genética é, então, o REML/BLUP. Detalhes sobre o REML/BLUP são apresentados por Resende et al. (1993, 1996) e Resende (2002, 2007 a e b).

Aqui serão considerados brevemente dois casos de experimentação, comuns no melhoramento do pinhão-manso:

- (i) a avaliação de clones em teste clonal no delineamento de blocos ao acaso, com avaliações repetidas da produtividade em várias safras; e
- (ii) a avaliação de progênies de meios-irmãos em teste no delineamento de blocos ao acaso, com avaliações repetidas da produtividade em várias safras.

Na situação (i) recomenda-se o uso do modelo 55 do Selegen-Reml/Blup. Este modelo de análise propicia a estimação simultânea da herdabilidade individual, da repetibilidade individual e da correlação genética através das colheitas, mesmo sob desbalanceamento. Esse modelo fornece os valores genotípicos para a média das safras e também os valores genotípicos em cada safra, porém usando os dados de todas as safras simultaneamente. Resultados para cada safra, usando simultaneamente a informação de todos os cortes, não podem ser obtidos pelo método tradicional da análise de variância, mesmo quando os dados são completamente balanceados. Essa é mais uma vantagem da metodologia de modelos mistos (Reml/Blup).

Na situação (ii) recomenda-se o uso do modelo 62 do Selegen-Reml/Blup. No presente caso, o modelo de análise conjunta envolvendo dados de diferentes safras precisa ser definido em nível de indivíduo. E nesse caso deve ser incorporado um vetor de efeitos aleatórios de ambiente permanente, visando contemplar o fato de que as medidas repetidas no mesmo indivíduo são correlacionadas. Esse modelo propicia estimativas dos valores genéticos individual, livres de todos os efeitos ambientais de parcelas, blocos e épocas de colheita.

Esse modelo de análise propicia a estimação simultânea da herdabilidade individual, da repetibilidade individual e da correlação genética através das colheitas, mesmo sob desbalanceamento. A avaliação de progênies de meios-irmãos é uma atividade comum nos programas de seleção recorrente em espécies perenes. Nesse caso, as unidades de recombinação são indivíduos e não famílias inteiras, tal como ocorre no melhoramento de culturas anuais, em que são utilizadas sementes remanescentes para recombinação.

Em espécies perenes, os próprios indivíduos avaliados são recombinados, podendo-se também incluir na recombinação alguns genitores. Assim, os modelos de análise devem ser em nível de indivíduos e não em nível de médias de famílias, como usado no melhoramento de plantas anuais. Este tipo de análise (nível de médias) apresenta deficiências, pois: não lida com o desbalanceamento dos dados, fato que sempre ocorre na experimentação de campo; não utiliza todos os efeitos do modelo estatístico estabelecido em nível de indivíduo; sob desbalanceamento, não utiliza adequadamente o parentesco genético entre os indivíduos em avaliação; e não considera que os próprios indivíduos avaliados serão recombinados e não os seus irmãos (sementes remanescentes), ou seja, não considera a coincidência entre unidade de seleção e unidade de recombinação. O método ótimo de seleção é o BLUP individual, o qual utiliza todos os efeitos do modelo estatístico, contempla o desbalanceamento, utiliza o parentesco genético entre os indivíduos em avaliação e considera a coincidência entre unidade de seleção e unidade de recombinação.

Na avaliação genética, um parâmetro importante, além da herdabilidade, é o coeficiente de repetibilidade. Esse coeficiente mede a capacidade dos organismos em repetir a expressão do caráter, ao longo de vários períodos de tempo, no decorrer da sua vida. Do ponto de vista prático, sua maior importância é permitir a determinação do número de safras necessárias para avaliar, com precisão, o valor genotípico dos indivíduos. Em espécies frutíferas, que apresentam ciclos bianuais de produção, a avaliação em quatro safras tem sido adequada. Isso permite avaliar duas safras de alta produtividade e duas safras de baixa produtividade. Permite também avaliar a capacidade de produção precoce (duas primeiras safras) e também a produtividade em estágio adulto, quando as plantas já estabilizaram a produção (terceira e quarta safras). Em termos de genética quantitativa e precisão na seleção, quatro safras conduzem a uma acurácia seletiva acima de 90% para caracteres com repetibilidade individual acima de 50% (RESENDE, 2002; RESENDE; BARBOSA, 2005).

Os caracteres a serem avaliados são aqueles pertinentes ao objetivo do melhoramento, que é a produção de óleo por área. E essa é função dos seguintes caracteres componentes da produção: número de cachos, número de frutos por cacho, peso de um fruto e teor de óleo

no fruto (mais precisamente na semente). Caracteres relacionados ao porte da planta podem também ser interessantes, por exemplo, visando à obtenção de plantas com porte reduzido, para facilitar a colheita e também para permitir um plantio mais adensado. Outros caracteres importantes são a qualidade do óleo e a resistência às doenças.

Uma questão básica é a definição dos caracteres a serem melhorados. O melhoramento de vários caracteres, simultaneamente, é bastante trabalhoso e oneroso e resulta, via de regra, em pequenos ganhos genéticos para cada caracter. Nesse sentido, é importante relatar que, quando n caracteres independentes são selecionados simultaneamente, o progresso genético em cada um deles corresponde a apenas $1/\sqrt{n}$ daquele que seria obtido caso fosse considerado cada carácter individualmente. Assim, é fundamental priorizar os caracteres por ordem de importância e, inicialmente, concentrar esforços em um ou poucos, trabalhando com os demais em fases posteriores.

Os caracteres altura e produção podem apresentar correlação genética positiva e alta. Isso dificulta a seleção de plantas produtivas e com porte baixo. Uma alternativa interessante é selecionar com base na variável relacional produção de castanha por unidade de altura (P/A). Para isso, basta criar a nova variável P/A, dividindo a coluna de dados da produção pela coluna de dados da altura. Expressando a produção dessa forma, a comparação entre a produtividade de plantas com diferentes tamanhos fica mais precisa e a seleção beneficiará aquelas concomitantemente mais produtivas e mais baixas. Outra opção é expressar a produção por unidade de área de copa, calculando-se a área da copa com base na altura (A) e diâmetro (D) da planta e assumindo uma forma esférica. Nesse caso, a área lateral de uma zona esférica é dada por πDA .

Variabilidade genética para vários caracteres em pinhão-manso tem sido relatada em experimentos conduzidos na Índia. Ginwal et al. (2004) avaliaram o desenvolvimento de mudas em sementeira (três meses) e plantas no campo (dois anos), oriundas de sementes coletadas em dez locais representativos da região central da Índia, e observaram variação no conteúdo de óleo das sementes, conforme a procedência, e diferenças significativas entre as diversas origens, aos 27 meses de idade, para altura da planta, diâmetro do coleto, número de ramificações, área foliar, taxa de sobrevivência,

peso da semente e da amêndoa e teor de óleo em ambas. Relataram também altos valores de herdabilidade no sentido amplo para altura de planta e diâmetro do caule.

Na Tailândia, no oitavo mês depois do transplântio de mudas, de quatro meses de idade, cultivadas em solo arenoso e ácido e obtidas de sementes procedentes de dez Províncias diferentes, Ratree (2004) obteve diferenças altamente significativas para o número médio de folhas de quatro diferentes acessos e para altura de planta em um acesso de pinhão-manso. Na Índia, estudos realizados por Ginwal et al. (2005) mostraram considerável variabilidade genética em relação a morfologia da semente, germinação e características de crescimento das mudas.

6.4. Métodos de Produção de Propágulos Melhorados

Alguns métodos de produção de propágulos melhorados são relatados a seguir de forma prática e direta. A terminologia empregada segue Resende et al. (1995).

(a) Áreas de coleta de sementes

Em um povoamento natural ou artificial, os seguintes passos devem ser adotados:

- avaliação da produtividade de cada planta;
- identificação das plantas mais produtivas;
- colheita de sementes apenas das plantas mais produtivas; e
- produção de mudas a partir das sementes colhidas.

O número de plantas a serem utilizadas para a colheita de sementes depende da quantidade necessária de sementes. Em geral, quanto menor o número de plantas utilizadas para colheita de sementes, maior o ganho genético em produtividade. Safras posteriores poderão ser medidas nas plantas originais, visando à confirmação da seleção. Quanto maior o número de safras avaliadas, maior será o ganho em produtividade.

(b) Áreas de produção de sementes

Em um povoamento natural ou artificial, os seguintes

procedimentos devem ser adotados:

- avaliação da produtividade de cada planta;
- identificação das plantas mais produtivas;
- desbaste com eliminação das piores plantas;
- colheita de sementes das plantas remanescentes; e
- produção de mudas a partir das sementes colhidas.

As demais considerações do item (a) são válidas, exceto que as avaliações de safras adicionais só poderão ser realizadas nas plantas remanescentes, quando, então, novos desbastes poderão ser aplicados.

(c) Pomares clonais de sementes

A partir de povoamentos naturais ou artificiais e testes de progênies, as seguintes etapas devem ser implementadas:

- avaliação da produtividade de cada planta;
- identificação das plantas com maiores produtividades;
- propagação vegetativa das selecionadas para um pomar de recombinação;
- colheita de sementes do pomar de sementes ou de recombinação; e
- produção de mudas a partir das sementes colhidas.

Neste procedimento, poderá ser utilizado um menor número de plantas do que aquele empregado no método do item (b), pois a distribuição espacial das plantas selecionadas será muito melhor e os indivíduos poderão ser repetidos várias vezes, aumentando a disponibilidade de sementes. Dessa forma, o ganho genético em produtividade será maior do que em Áreas de Coleta de Sementes e Áreas de Produção de Sementes.

(d) Testes de progênies e pomar de sementes por mudas

Neste método, os seguintes procedimentos devem ser adotados:

- colheita de sementes de matrizes previamente selecionadas;
- produção de mudas em separado para cada matriz;
- plantio das mudas produzidas em local adequado (limpo, plano e com tratos culturais adequados), identificando as mudas de acordo com as matrizes;

- avaliação da produtividade de todas as plantas;
- identificação (via BLUP Individual) dos indivíduos com maiores valores genéticos para produtividade;
- desbaste das plantas não selecionadas, formando o pomar de sementes por mudas; e
- produção de mudas a partir das sementes colhidas no pomar.

(e) Jardins clonais e plantios clonais

A propagação vegetativa é possível em pinhão-manso. A seguir, são relatados os procedimentos que devem ser realizados visando aos plantios clonais:

- realização de testes clonais e avaliação de várias safras (no mínimo três) em várias plantas;
- seleção das melhores plantas, com base no BLUP;
- propagação das plantas selecionadas para um jardim clonal, que serão mantidas rebaixadas e servirão como fontes de estacas para os plantios clonais; e
- produção e plantio de mudas clonais obtidas a partir do jardim clonal.

Entre os métodos descritos, os mais eficientes e recomendados são os três últimos.

7. Referências Bibliográficas

ABDELGADIR, H.A.; JOHNSON, S.D.; VAN STADEN, J. Approaches to improve seed production of *Jatropha curcas* L., **South African Journal of Botany**, v.74, n.2, p.359, abr. 2008.

ABREU, F.B.; RESENDE, M.D.V.; FREITAS, F.B.; BRENHA, J.A.M.B.; ANSELMO, J.L. Variabilidade genética entre procedências de pinhão-manso na fase juvenil no MS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 4., 2007., **Resumos...** São Lourenço-SP:2007.

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.

ALVES, R. M. ; RESENDE, M. D. V. Avaliação genética de indivíduos e progênies de cupuaçuzeiro no estado do Pará e estimativas de parâmetros genéticos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 3, 2008.

AMARAL JÚNIOR, A.T.; THIÉBAUT, J.T.L. **Análise multivariada na avaliação de diversidade em recursos genéticos vegetais**. Campos dos Goytacazes: UENF-CCTA, 1999, 55p.

ARRUDA, F.; BELTRÃO, N.E.M.; ANDRADE, A.P.; PEREIRA, W.E.; SEVERINO, L.S. Cultivo de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semi-árido nordestino. **Rev. Bras. Ol. Fibrós.**, Campina Grande, v.8, n.1, p.789-799, jan-abr. 2004.

ATROCH, A.L.; RESENDE, M.D.V.; NASCIMENTO FILHO, F.J. Seleção clonal em guaranazeiro via metodologia de modelos lineares mistos (REML/BLUP). *Revista de Ciências Agrárias*, v. 41, n. 1, p. 193-201, 2004.

BARBOSA-NETO, J.F.; BERED, F. Marcadores moleculares e diversidade genética no melhoramento de plantas: In: MILACH, S.C.K. (ed.) **Marcadores Moleculares em Plantas**. Porto Alegre: UFRGS. p. 29-40. 1998.

BARCELOS, E.; NUNES, C. D. M.; CUNHA, R. N. V. Melhoramento genético e produção de sementes comerciais de dendezeiro. In: VIEGA, I. J. M.; MULLER, A. A. **A cultura do dendezeiro na Amazônia Brasileira**. Belém: Embrapa, 2000. p. 145-174.

BARROS, L.M.; PAIVA, J.R; CRISÓSTOMO, J.R.; CAVALCANTI, J.J. **Hibridação em caju**. In: BORÉM, A. Hibridação artificial de plantas. Viçosa, Ed. UFV, 1999. 546p.

BASHA, S.D.; SUJATHA, M. Inter and intra-population variability of *Jatropha curcas* L. characterized by RAPD and ISSR markers and

development of population-specific SCAR markers. **Euphytica**, v. 156, p.375-386, 2007.

BAUDOUIIN, L.; BARIL, C.; CLEMENTDEMANGE, A.; LEROY, T.; PAULIN, D. Recurrent selection of tropical tree crops. **Euphytica**, v. 96, n. 1, p. 101-114, 1997.

BHATTACHARYA, A.; DATTA, K.; DATTA, S.K. Floral Biology, Floral resource constraints and pollination limitation in *Jatropha curcas* L. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.8, n.3, p.456-460, 2005.

BORÉM, A.; CAIXETA, E.T. **Marcadores Moleculares**. Viçosa-MG, UFV, 2006, 374p.

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

CASTRO, E.M.; BRESEGHELLO, F.; RANGEL, P.H.N.; MORAES, O.P. **Melhoramento do arroz**. In: BOREM, A. Melhoramento de espécies cultivadas. Viçosa: Editora UFV, 2005. p. 103-140.

CAVALCANTI, J. J. V.; RESENDE, M. D. V. de; CRISÓSTOMO, J. R.; BARROS, L. M.; PAIVA, J. R. de. Genetic control of quantitative traits and hybrid breeding strategies for cashew improvement. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 7, p. 186-195, 2007.

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

COELHO, P.J.A.; BARROS, L.M. **Coleta de germoplasma de cajueiro**. In: WALTER, B.M.T.; CAVALCANTI, T.B. Fundamentos para a coleta de germoplasma vegetal. Brasília: Embrapa, p. 279-306, 2005.

CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**, vol.2., 2ª ed. Viçosa: UFV, 2006. 585p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**, 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2004. vol.1.480p.

DEHGAN, B.; WEBSTER, G. L. Morphology and intergeneric hybridization in *Jatropha* (Euphorbiaceae). **Syst Bot**, v 9, p.467-478,1979.

DIAS, L. A. S. dos; RESENDE, M. D. V. de. **Estratégias e métodos de seleção**. In: DIAS, L. A. S. dos. (Org.). Melhoramento genético do cacauero. Viçosa: FUNAPE, 2001. p. 217-287.

DNISSA, K.U.;PARAMATHMA, M. **Studies on pollen viability and Stigma receptivity in *Jatropha* species**. In: PARAMATHMA, M.; VENKATACHALAM, P.; SAMPATHRAJAN, A. *Jatropha* Improvement, Management and Production of Biodiesel. Centre of Excellence in Biofuels, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, 2007, p. 85-95.

FARIAS NETO, J. T. ; LINS, P. M. P. ; RESENDE, M. D. V. ; Muller, A. A. Seleção genética em progênies híbridas de coqueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.4, 2008.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA. D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em Análise genética**. 3. ed. Brasília: EMBRAPA – CENARGEM, 1998, p. 220.

GALLAIS, A. **Amélioration des populations, méthodes de sélection et création des variétés**. III. Bases theoriques pour l'étude de la sélection récurrente réciproque. *Annales des Améliorations des Plantes*, v. 28, p. 637-660, 1978.

GALLAIS, A. **Théorie de la sélection en amélioration des plantes**. Paris: Ed. Masson, 1989. 588p.

GÓIS, I. B.; SILVA, R.; BOARI, A. de J.; OLIVEIRA, A. dos S.; FRAGA; A. C. **Caracterização isoenzimática de acessos de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.)**. 2º Congresso Brasileiro de Mamona, Cenário Atual e Perspectivas, 2006.

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.

GINWAL, H.S.; PHARTYAL, S.S.; RAWAT, P.S.; SRIVASTAVA, R.L. Seed source variation in morphology, germination and seedling growth of *Jatropha curcas* Linn. In Central India. **Silvae Genetica**, v.53, n.2. p.76-80. 2005.

HELLER, J. **Physic nut. *Jatropha curcas* L.** Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 1. Institute of Plant genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant genetic Resources Institute, Rome. 66p. 1996.

JHA, B.T.; MUKHERJEE, P.; DATTA, M.M. Somatic embryogenesis in *Jatropha curcas* Linn., an important biofuel plant, **Plant. Biotechnol. Rep.**, v.1, p.135-140. 2007.

JONGSCHAAP, R.E.E.; CORRÉ, W.J.; BINDRABAN, P.S.; BRANDENBURG, W.A. **Claims and Facts on *Jatropha curcas* L.**, Wageningen UR: Plant Research International, 2007. 42p.

KAUSHIK, N.; KUMAR, K.; KUMAR, S.; KAUSHIK, N.; ROY, S. Genetic variability and divergence studies in seed traits and oil content of *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.) accessions. **Biomass and Bioenergy**, v. 31, n.7, p.479-502, 2007.

LAL, S.B.; MEHERA, B. **Importance of raising elite planning material of *Jatropha Curcas* L. for energy independence of India.** In: ISING, B., SWAMINATHAN, R., PONRAJ, V. Biodiesel Conference Towards Energy Independence – Focus on *Jatropha*. 2006. p. 197-202. Disponível em http://biodiesel.nedfi.com/media/download_gallery/spland%20presentation.pdf. Acesso em: 29 de set. de 2008.

MALUF, W.R.; FERREIRA, P.E. Análise multivariada da divergência genética em feijão de vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) **Horticultura Brasileira**, v.1, n.2, p. 31-34, 1983.

MESHARAM, P.B.; JOSHI, K.C. A new report of *Spodoptera litura* (Fab.) Boursin (Lepidoptera: Noctuidae) as a pest of *Jatropha curcas* Linn. **Indian Forester**, v. 120, n.3, p.273-274, 1994.

MOHAMMADI, S. A.; PRASANNA, B.M. Analysis of genetic in crop plants: saliente statistical tools and considerations. **Crop Science**, v. 432, p.1235-1248, 2003.

NARAYANA, D.S.A.; SHANKARAPPA, K.S.; GOVINDAPPA, M.R.; PRAMEELA, H.A.; GURURAJRAO; M.R. RANGASWAMY, K.T. Natural occurrence of *Jatropha* mosaic virus disease in India. **Current Science**, v. 91, n. 5, 2006.

OLIVEIRA, A. dos S.; SILVA-MANN, R.; SANTOS, M. da F.; GÓIS, I. B.; CARVALHO, S. V. A.; BOARI, A. J.; FRAGA, A. C.; NETO, P. C. **Prospecção e caracterização de acessos de *Jatropha curcas* L.** 2º Congresso Brasileiro de Mamona, Cenário Atual e Perspectivas, 2006.

OLIVEIRA, M.R.V.; PAULA-MORAES, S.V.; MENDES, M.A.S.; MARTINS, O.M.; BATISTA, M.F. **Pragas com potencial quarentenário para culturas oleaginosas envolvidas na produção da agroenergia.** EMBRAPA, 18p., 2007. (Comunicado Técnico 161).

PAIVA, J. R. de; RESENDE, M. D. V. de; CORDEIRO, E. R. Avaliação do número de colheitas na produção de progênies de acerola, repetibilidade e herdabilidade de caracteres. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n.1, p. 102-107, 2001.

PAIVA, J. R. de; RESENDE, M. D. V. de; CORDEIRO, E. R. Índice multi-efeitos (BLUP) e estimativas de parâmetros genéticos aplicados ao melhoramento da acerola. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 6, p. 799 – 807, 2002.

PAIVA, J.R.; CORDEIRO, E.R.; CORRÊA, M.C.M.; RESENDE, M. D. V. Acerola plant selection and breeding value prediction in second selection cycle progenies. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 7, p. 125-132, 2007.

PAMIDIAMARRI, D.V.N. S.; PANDAYA, N.; REDDY M. P.; RADHAKRISHNAN, T. Comparative study of interspecific genetic divergence and phylogenetic analysis of genus *Jatropha* by RAPD and AFLP. **Molecular Biology Reports**, 2008a.

PAMIDIAMARRI, D.V.N. S.; SINGH, S.; MASTAN, S. G.; PATEL, J.; REDDY, M. P. Molecular characterization and identification of markers for toxic and non-toxic varieties of *Jatropha curcas* L. using RAPD, AFLP and SSR markers. **Molecular Biology Reports**, 2008b.

PARAMATHMA, M; UMA MAHESWARI, D.; JUDE SUDHAGAR, R.; NAVAMANIRAJ, K.N. **Germoplasm Diversity in Jatropha**. In: PARAMATHMA, M.; VENKATACHALAM, P.; SAMPATHRAJAN, A. *Jatropha* Improvement, Management and Production of Biodiesel. Centre of Excellence in Biofuels, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, 2007a, p. 31-40.

PARAMATHMA, M; UMA MAHESWARI, D.; PREMALATHA, M.; JUDE SUDHAGAR, R. **Hybrid Breeding in Jatropha**. In: PARAMATHMA, M.; VENKATACHALAM, P.; SAMPATHRAJAN, A. *Jatropha* Improvement, Management and Production of Biodiesel. Centre of Excellence in Biofuels, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, 2007b, p. 41-46.

PARAMATHMA, M; UMA MAHESWARI, D.; JUDE SUDHAGAR, R.; SIVAPRAKASH, M. **Jatropha-an Introduction and development in India**. In: PARAMATHMA, M.; VENKATACHALAM, P.; SAMPATHRAJAN, A. *Jatropha* Improvement, Management and Production of Biodiesel. Centre of Excellence in Biofuels, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, 2007c, p. 21-29.

PICOLI, E.A.T.; ALFENAS, A.C.; LAIA, M.L.; MOURA, D.F.; DIAS, L.A.S.; FONSECA, S.S.; FERNANDES, D.; CRUZ, C.D. **Divergência genética entre árvores matrizes de *Eucalyptus urphylla* e *E. grandis* por meio de análise de RAPD**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 1., 2001, Goiânia. **Anais...Goiânia: SBMP. CD-ROM.**

RAJU, A.J.S.; RAM, S. G.; PARTHIBAN, K.T.; KUMAR, R. S.; THIRUVENGANDAM, V.; PARAMATHMA, M. Genetic diversity among *Jatropha* species as revealed by RAPD markers. **Genet. Resour. Crop Evol.** v. 55, p.803-809, 2008.

RANADE, S. A.; SRIVASTAVA, A. P., RANA, T. S.; SRIVASTAVA, J.; TULI R. Easy assessment of diversity in *Jatropha curcas* L. plants using two single-primer amplification reaction (SPAR) methods. **Biomass and Bioenergy**, v.32, p.533-540, 2008.

RAO, G.R.; KORWAR, G.R.; SHANKER, A.K.; RAMAKRISHNA, Y.S. Genetic associations, variability and diversity in seed characters, growth, reproductive phenology and yield in *Jatropha curcas* (L.) accessions. **Trees**, v. 22, n. 5, p. 697-709, 2008.

RAJU, A.J.S., EZRADANAM, V. Pollination ecology and fruiting behaviour in a monocious species, *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae). **Current Science**, v. 83, n.11, p. 1395-1398, 2002.

RATREE, S. A Preliminary study on Physic Nut (*Jatropha curcas* L.) in Thailand. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.7, n.9, p.1620-1623, 2004.

REIF, J.C.; MELCHINGER, A.E.; FRISCH, M. Genetical and mathematical properties of similarity and dissimilarity coefficients applied in plant breeding and seed bank management. **Crop Science**, v.45, p.1-7, 2005.

RESENDE, M. D. V. de. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 975 p.

RESENDE, M.D.V. Melhoramento de essências florestais. In: BOREM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: Editora UFV, 2005. p. 717-780.

RESENDE, M. D. V. **Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético**. Colombo: Embrapa Florestas, 2007 a. 560 p.

RESENDE, M. D. V. de. **Seleção-Reml/Blup: Sistema Estatístico e Seleção Genética Computadorizada via Modelos Lineares Mistos**. Colombo: Embrapa Florestas, 2007 b. 360 p.

RESENDE, M. D. V. de; BARBOSA, M. H. P. **Melhoramento genético de plantas de propagação assexuada**. Colombo: Embrapa Florestas, 2005. 130 p.

RESENDE, M. D. V. de; FURLANI JÚNIOR, E.; MORAES, M. L. T.; FAZUOLI, L. C. Estimacão de parâmetros genéticos e predicão de valores genotípicos no melhoramento do cafeeiro pelo procedimento REML/BLUP. **Bragantia**, Campinas, v. 60, n.3, p. 185 - 193, 2001.

RESENDE, M. D. V. de; HIGA, A. R. Estratégias de melhoramento para eucalipto visando a seleçãõ de híbridos. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, v. 20/21, p. 1-20, 1990.

RESENDE, M. D. V. de; HIGA, A. R. Maximizaçãõ da eficiência da seleçãõ em testes de progênies de *Eucalyptus* através da utilizaçãõ de todos os efeitos do modelo matemático. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 28/29, p. 37-55, 1994.

RESENDE, M. D. V. de; HIGA, A. R.; LAVORANTI, O. J. Predicão de valores genéticos no melhoramento de *Eucalyptus* – melhor predicão linear. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 7., 1993, Curitiba. **Anais...** Curitiba: SBS, 1993. p. 144-147.

RESENDE, M. D. V. de; OLIVEIRA, E. B.; HIGA, A. R. Utilizaçãõ de índices de seleçãõ no melhoramento do *Eucalyptus*. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 21, p. 1-13, 1990.

RESENDE, M. D. V. de; PRATES, D. F.; JESUS, A.; YAMADA, C. K. Estimacão de componentes de variância e predicão de valores genéticos pelo método da máxima verossimilhança restrita (REML) e melhor predicão linear não viciada (BLUP) em *Pinus*. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n.32/33, p.18-45, 1996.

RESENDE, M. D. V. de; STURION, J. A.; MENDES, S. **Genética e melhoramento da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill)**.

Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1995. 33p. (EMBRAPA-CNPQ. Documentos, 25).

SANTOS, M.J.; MACHADO, I.C.; LOPES, A.V. Biologia reprodutiva de duas espécies de *Jatropha* L. (Euphorbiaceae) em Caatinga, Nordeste do Brasil. **Revista Brasil. Botânica**, v.28, n.2, p.361-373, 2005.

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

SOONTORNCHAINAKSAENG, P.; JENJITTIKUL, T. **Karyology of *Jatropha* (Euphorbiaceae) in Thailand**, Thai Forest Bull. V.31, p. 105–112, 2003.

SOUZA, A. G. C.; RESENDE, M. D. V.; SILVA, S. E. L.; SOUZA, N. R. The cupuaçu genetic improvement program at Embrapa Amazônia Ocidental. **Crop Breeding And Applied Biotechnology**, Londrina, v. 2, n. 3, p. 471-478, 2002.

SUJATHA, M.; PRABAKARAN, A.J. New ornamental *Jatropha* hybrids through interespecific hybridization. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.50, p.75-82, 2003.