**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Batata-doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] nas roças e quintais do litoral paulista: diversidade genética morfoagronômica, com base em morfometria geométrica, descritores e produção de bioetanol

Hendrie Ferreira Nunes

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Genética e Melhoramento de Plantas

**Piracicaba
2016**

Hendrie Ferreira Nunes
Biólogo

**Batata-doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] nas roças e quintais do litoral paulista:
diversidade genética morfoagronômica, com base em morfometria geométrica,
descritores e produção de bioetanol**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **GIANCARLO CONDE XAVIER OLIVEIRA**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Genética e
Melhoramento de Plantas

**Piracicaba
2016**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Nunes, Hendrie Ferreira

Batata-doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] nas roças e quintais do litoral paulista: diversidade genética morfoagronômica, com base em morfometria geométrica, descritores e produção de bioetanol / Hendrie Ferreira Nunes. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2016.
127 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Agricultura tradicional 2. Batata-doce 3. Morfometria geométrica 4. Métodos multivariados I. Título

CDD 633.492
N972b

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

A Deus,

AGRADEÇO

À minha família e esposa
Pelo apoio e incentivo,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todas as pessoas e instituições que possibilitaram o desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu orientador, Giancarlo Conde Xavier Oliveira, pela oportunidade, confiança, paciência e todo o conhecimento compartilhado durante o doutorado, sou muito grato por tudo.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, em especial aos professores da Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pelos ensinamentos e minha formação.

Ao (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo e apoio à pesquisa.

Ao Instituto Federal de Santa Catarina (IFSC) pela concessão do afastamento parcial.

A todos os professores e amigos da Pós-Graduação em Genética e Melhoramento – UFPI, em especial à professora Regina Lucia Ferreira Gomes, por ter incentivado minha vinda a Piracicaba para que eu pudesse concretizar esse sonho.

Aos meus ex-orientadores Dr. Francisco Rodrigues Freire Filho (Embrapa) e Valdomiro Aurélio (*in memoriam*) pela eterna amizade e valiosos ensinamentos.

Ao Cláudio Segatelli, “Aparecido”, “Miguelão” (*in memoriam*), Haroldo, “Mineiro”, Tadeu, “João Pires”, “Dinho”, “Fran”, “Capela” e “Zé” pela imensa ajuda nos plantios e colheitas dos experimentos.

Aos funcionários do Departamento de Genética por toda colaboração e suporte oferecido. Em especial, a “Léia”, “Carmo”, “Pipo”, “Marcão” e “Berdan” pelo companheirismo e momentos de descontração.

Ao laboratório de Genética Aplicada e Espécies Autógamas por auxílios e disponibilidade de equipamentos para execução do trabalho.

À técnica do laboratório de amido do LAN/Esalq, Carlota Borralli, pelo auxílio nas análises dos teores de amido.

Aos agricultores do litoral paulista, que disponibilizaram o material de estudo, por terem me recebido em suas casas e aceitado participar do estudo.

Ao José Carlos (CATI-Ubatuba) e Edson Sassamoto (Cananéia), pelo auxílio nas coletas.

A todos meus amigos do Laboratório de Evolução - Jayça, Vivian, Leonardo, Josilane e Eduardo pela amizade, conversas e colaboração no trabalho.

Ao Ronaldo Rabello e Carlos Verissimo pela amizade e colaboração na execução das atividades de campo.

Às amigas Débora e Valéria, pelo auxílio nas análises morfométricas e de etanol.

A todos meus amigos da Esalq, especialmente, Paolo, Mônica, Kênia, Diane, Fabi, Carina, Melina, Carmelice, Bruna, João Bachega, Fernanda, Eleonora, Nancy, Santiago, Alessandro, Jaqueline, Felipe, Miklos, Augusto, Gabriela, Nelson, Gabriel, Sueme, Fernando Piotto, Marcos Siqueira, Welligton e Jucelene.

Aos amigos João (vulgo “perigoso”) e Mari, pelas valiosas contribuições e amizade.

A todos os amigos do Piauí, em especial ao Ribamar, Massaine, Iradênia e Ellida por toda a ajuda, momentos de convivência, companheirismo e amizade.

Aos professores e funcionários do IFSC, campus Canoinhas, pelo carinho e incentivo nesta reta final.

Em especial quero agradecer à Glaucia e ao Marcos, com quem convivi muito tempo durante esses quatro anos, pela ajuda em todos os momentos do desenvolvimento do trabalho, acima de tudo pela amizade de vocês.

E a todos, que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	11
1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 O objeto de estudo, <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam.	13
1.1.1 Aspectos botânicos e taxonômicos	13
1.1.2 Origem e domesticação	14
1.1.3 Distribuição e aspectos socioeconômicos	15
1.2 Caracterização morfoagronômica e variabilidade genética.....	16
1.3 Morfometria geométrica.....	18
1.3.1 Métodos de análises da forma em folhas.....	19
1.3.1.1 Análise elíptica de Fourier.....	19
1.3.1.2 Análises baseadas em pontos de referência.....	21
1.4 Bioetanol.....	21
1.4.1 Produção global e usos do bioetanol	21
1.4.2 Matérias-primas para produção de bioetanol	22
1.4.3 Etanol de batata-doce	25
1.5 Objetivos e justificativas	26
1.7 Hipóteses	27
Referências	27
2 DIVERSIDADE MORFOAGRONÔMICA EM ACESSOS DE BATATA-DOCE [<i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam.] NO LITORAL NORTE E DO VALE DO RIBEIRA, SÃO PAULO	42
Resumo	42
Abstract.....	42
2.1 Introdução.....	43
2.2 Material e Métodos.....	44
2.2.1 Material vegetal	44
2.2.2 Instalação e condução do experimento.....	45
2.2.3 Avaliações experimentais	49
2.2.3.1 Caracterização morfológica.....	49
2.2.3.2 Caracterização agrônômica e outras quantitativas	51
2.2.4 Análises estatísticas	52

2.3 Resultados e Discussão	53
2.3.1 Diversidade baseada em caracteres morfoagronômicos	53
2.3.2 Diversidade baseada em descritores morfológicos	65
2.4 Conclusões	80
Referências.....	80
3 UTILIZAÇÃO DA MORFOMETRIA GEOMÉTRICA NA CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA EM GERMOPLASMA DE BATATA-DOCE [<i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam.].....	87
Resumo	87
Abstract.....	87
3.1 Introdução	88
3.2 Material e Métodos	89
3.2.1 Material vegetal e amostragem	89
3.2.2 Aquisição, processamento e binarização das imagens.....	92
3.2.3 Descritores elípticos de Fourier	93
3.2.4 Análises estatísticas	95
3.3 Resultados e Discussão	96
3.4 Conclusões	103
Referências.....	103
4 ANÁLISE MULTIVARIADA DA DIVERSIDADE GENÉTICA EM ACESSOS DE BATATA-DOCE UTILIZANDO DESCRITORES RELACIONADOS A PRODUÇÃO DO BIOETANOL	109
Resumo	109
Abstract.....	109
4.1 Introdução	109
4.2 Material e Métodos	111
4.2.1 Material vegetal e delineamento experimental	111
4.2.2 Variáveis avaliadas	114
4.2.3 Análises estatísticas	116
4.3 Resultados e Discussão	116
4.4 Conclusões	123
Referências.....	123

RESUMO

Batata-doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] nas roças e quintais do litoral paulista: diversidade genética morfoagronômica, com base em morfometria geométrica, descritores e produção de bioetanol

A batata-doce é uma das fontes de alimento mais importantes do mundo, sendo muito cultivada no Brasil por agricultores tradicionais. Os caiçaras, habitantes do litoral do Sudeste brasileiro, têm exercido enorme influência na manutenção da diversidade genética em muitas culturas, incluindo a batata-doce. Como os processos de mudanças socioeconômicas e agrícolas nesta região são muito rápidos e têm provocado alterações constantes nesses sistemas agroecológicos, pretendeu-se capturar o nível de diversidade genética mantida por estes agricultores, por meio da morfometria geométrica e caracteres morfoagronômicos, além de avaliar o potencial da cultura para a produção de etanol. Assim, 71 acessos coletados no litoral Norte e do Vale do Ribeira mais seis acessos de um antigo banco de germoplasma e três variedades comerciais de um produtor de Piracicaba foram utilizados nestas avaliações. Para a caracterização morfoagronômica, os acessos foram submetidos às avaliações, com base em 10 descritores quantitativos e 27 qualitativos. Nas avaliações quantitativas, o método de Tocher e UPGMA apresentaram concordância, indicando a produtividade como caráter fundamental na formação dos grupos, por outro lado, não existiu consistência na formação dos grupos entre os métodos ADCP e UPGMA, com base nos caracteres qualitativos. A maior parte da variabilidade encontrada ficou entre os acessos e não se observou qualquer estruturação espacial da variabilidade. A análise elíptica de Fourier (AEF) realizada em 1.437 folhas permitiu a extração dos seis primeiros componentes principais para explicar a maior parte da variabilidade existente nas amostras. A reconstrução do contorno foliar indicou que os dois primeiros componentes principais descreveram as variações quanto ao índice de lobação do limbo e as diferenças na profundidade do seio peciolar, sendo estes caracteres provavelmente de herança qualitativa e quantitativa, respectivamente. A análise multivariada de variância (MANOVA) revelou diferenças significativas entre os acessos avaliados, indicando a presença de variabilidade genética. O método UPGMA demonstrou a existência de grupos com folhas cordiformes, com três lóbulos e com cinco ou mais lóbulos. Na identificação do potencial de etanol foram avaliados os caracteres teor de amido, produtividade ($t.ha^{-1}$), rendimento de amido, rendimento de etanol em litros por hectare ($L.ha^{-1}$) e rendimento de etanol em litros por tonelada ($L.t^{-1}$). O método de Tocher possibilitou a formação de nove grupos. Os acessos mais dissimilares e com média elevada para os caracteres indicaram a possibilidade de seleção de genótipos superiores. Os resultados obtidos nestas avaliações permitem inferir que (1) existe uma alta diversidade genética mantida pelos caiçaras, (2) a AEF pode ser utilizada com sucesso na avaliação da diversidade nesta espécie e (3) a batata-doce apresenta-se como fonte alternativa para geração de bioetanol.

Palavras-chave: Agricultura tradicional; Batata-doce; Morfometria geométrica; Métodos multivariados

ABSTRACT

Sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] in the swidden agriculture of the coastal region of São Paulo State: morphoagronomic genetic diversity, based on geometric morphometry, descriptors and bioethanol production

Sweet potato is one of the most important food sources in the world and is widely cultivated in Brazil by traditional farmers. The native human population of the southeastern Brazilian coast, has exerted enormous influence in maintaining genetic diversity in many crops, including sweet potato. As the processes of socioeconomic and agricultural change in this region are very fast and have caused constant changes in their agroecological system, it was intended to capture the genetic diversity level maintained by these farmers through the geometric morphometrics and morphological traits, to evaluate the potential of the crop for the production of ethanol. Thus, 71 accessions collected in the Northern Coast of São Paulo State and in the coast of the Ribeira Valley region, in Southern São Paulo State, plus six accessions from a former germplasm bank and three commercial varieties from a farm in Piracicaba, SP, were used in these assessments. For morphoagronomic characterization, accessions were subjected to evaluation using 10 quantitative and 27 qualitative descriptors. In quantitative assessments, Tocher and UPGMA method showed agreement, indicating productivity as fundamental in the formation of groups. On the other hand, there was no consistency in the groups between the DAPC and UPGMA methods, based on qualitative characters. Most of the variability was found among the accessions and the genetic variability had no spatial structure. The elliptical Fourier analysis (EFA) performed on 1,437 leaves allowed the extraction of the first six principal components and explained most of the variability of the samples. The reconstruction of the leaf outline indicated that the first two principal components described the variation in the leaf blade lobation index and the differences in the depth of the petiole sinus, and these characters probably have qualitative and quantitative inheritance, respectively. Multivariate analysis of variance (MANOVA) revealed significant differences among accessions, indicating the presence of genetic variability. The UPGMA method showed the existence of groups with heart-shaped leaves, both with three lobes and five or more lobes. The potential for ethanol production was evaluated through the starch content, starch yield (t.ha^{-1}), ethanol yield in liters per hectare (L.ha^{-1}) and ethanol yield in liters per tonne (L.t^{-1}). Tocher's method made possible the formation of nine groups. The most dissimilar accessions with high average for the traits indicated the possibility of selection of superior genotypes. The results obtained in these assessments allow us to infer that (1) there is a high genetic diversity maintained by the native population, (2) EFA can be successfully used in the evaluation of diversity in this species and (3) the sweet potato is presented as an alternative source to generate bioethanol.

Keywords: Traditional agriculture; Sweet potato; Geometric morphometry; Multivariate methods

1 INTRODUÇÃO

1.1 O objeto de estudo, *Ipomoea batatas* (L.) Lam.

1.1.1 Aspectos botânicos e taxonômicos

A espécie *Ipomoea batatas* (L.) Lam., pertencente à família Convolvulaceae e ao gênero *Ipomoea* (JOLY, 1998; LEBOT, 2009), é popularmente conhecida como ‘Camote’ no México, Chile, América Central e Filipinas, ‘Boniato’ na Espanha e Uruguai, ‘Kumar’ no Chile, ‘Kumara’ na região da Polinésia e outros países da Oceania, ‘Kaukau’ na Papua Nova Guiné e ‘Batata-doce’ no Brasil (WOOLFE, 2008; MCKINNON; STARNES; CARILLET, 2008; LEBOT, 2009).

A batata-doce é uma planta herbácea perene, tratada como anual quando cultivada (WOOLFE, 2008), que apresenta uma grande variabilidade em sua morfologia (HUAMAN; AGUILAR; ORTIZ, 1999). O hábito de crescimento é predominantemente prostrado, com ramas que se espalham horizontalmente sobre o solo de forma rápida (HUAMAN; AGUILAR; ORTIZ, 1999; LEBOT, 2009).

O sistema radicular da batata-doce é formado por dois tipos de estrutura: (a) raízes fibrosas, que se desenvolvem a partir das gemas, e que são responsáveis pela absorção de água e nutrientes, e (b) raízes tuberosas que se originam normalmente nos entrenós, através do acúmulo de produtos fotossintéticos (LEBOT, 2009). As raízes tuberosas são a parte comercial do cultivo de batata-doce e apresentam uma periderme (casca externa ou pele) protetiva, um córtex (casca interna) e uma polpa (FOLQUER, 1978). Os genótipos podem variar na cor da periderme, bem como na composição química e cor da polpa. A periderme varia de branca a amarela, creme, laranja, vermelha e púrpura, enquanto que a polpa pode ser branca, amarela, laranja, avermelhada ou púrpura (FOLQUER, 1978; LEBOT, 2009). Além disso, dentro de um mesmo genótipo, pode ocorrer variação na quantidade de raízes por planta e na forma e tamanho dentro de uma mesma planta, assim como entre plantas de um mesmo clone que se desenvolvem juntas, em um campo experimental (LEBOT, 2009). Esta variação pode ser um reflexo da plasticidade fenotípica muito sensível a variações do microambiente ou a falta de robustez do desenvolvimento.

O caule (haste ou rama) é cilíndrico, fino (3-10 mm de diâmetro), glabro ou muito pubescente e apresenta vasos lactíferos. Dependendo do genótipo, a coloração pode variar de verde até vermelho-púrpura. O espaçamento entre os entrenós é muito variável, sofrendo enorme influência ambiental (FOLQUER, 1978; HUAMAN; AGUILAR; ORTIZ, 1999).

As folhas são muito variáveis e encontram-se dispostas em espiral; são simples e possuem pecíolos que medem entre cinco e 30 cm de comprimento (LEBOT, 2009). O limbo foliar pode ter formatos bastante variáveis entre genótipos, podendo ser: cordiforme, cordiforme-arredondado, sagitado, hastado, lobado, lanceolado e, às vezes, fendido ou partido (FOLQUER, 1978). A coloração das nervuras também é variável.

As flores são hermafroditas, perfeitas, dispostas em inflorescências do tipo cimeira e apresentam diferenças no tamanho, formato e coloração, dependendo da variedade. Cada flor apresenta cinco sépalas, cinco pétalas, cinco estames e um pistilo composto. A corola é infundibuliforme, com medidas que variam de 3 a 6 cm de comprimento e 2 a 5 cm de diâmetro (JONES, 1980; LEBOT, 2009). A coloração das pétalas varia do rosa claro até um roxo profundo na garganta e são descoradas em sua margem. O cálice é persistente, permanecendo ligado ao eixo floral mesmo após a queda das pétalas. O androceu é formado de cinco estames de tamanho variável, adnatos à corola. O gineceu consiste de um pistilo com ovário súpero, com dois carpelos e dois lóculos contendo um ou dois óvulos. A base do ovário é circundada por nectário laranja, que atrai os insetos (FOLQUER, 1978; LEBOT, 2009). As variedades de batata-doce diferem em sua capacidade de produzir flores. Em condições normais no campo, algumas variedades não florescem, enquanto outras produzem poucas flores e outras produzem flores em profusão (FOLQUER, 1978; JONES, 1980; LEBOT, 2009).

1.1.2 Origem e domesticação

A batata-doce originou-se no continente americano (LEBOT, 2009). No entanto, a origem botânica, o período e a localização geográfica de sua domesticação permanecem desconhecidos (ROULLIER et al., 2013b). Algumas hipóteses têm sido formuladas para discutir a origem da batata-doce. Em uma delas, Austin (1987) propõe que uma hibridação natural entre *I. trifida* e *I. triloba* deve ter originado os ancestrais da batata-doce em algum local entre a península de Yucatán e a bacia do rio Orinoco. Por outro lado, Kobayashi (1984) acredita que *I. trifida* forma um complexo autopoliplóide, com níveis de ploidia variando de diplóide a hexaplóide, e que a domesticação da batata-doce é proveniente de um desses grupos. Estudos realizados com marcadores moleculares (RFLP, RAPD e SSR) e investigações citogenéticas (FISH) sugerem que o genoma hexaplóide de *I. batatas* pode ser formado de três genomas diferentes, sendo dois genomas estreitamente relacionados e o terceiro proveniente de um parental mais distante (MAGOON; KRISHNAN; VIJAYA BAI, 1970; BUTELER et al., 2002; SRISUWAN; SIHACHAKR; SILJAK-YAKOVLEV, 2006).

Dados obtidos de diferentes marcadores moleculares identificaram a espécie *I. trifida* como mais estritamente relacionada à batata-doce do que *I. triloba* (JARRET; AUSTIN, 1994; HUANG; CORKE; SUN, 2002; RAJAPAKSE et al., 2004; ROULLIER et al., 2013a).

Zhang et al. (2000) sugerem que a batata-doce se originou na América Central. No entanto, estudos recentes apontam que ocorreram pelo menos dois eventos de domesticação, sendo um na região da Mesoamérica/Caribe e o outro na América do Sul (ROULLIER et al., 2011, 2013a). Vestígios arqueológicos de batata-doce seca encontrados no Peru, datados entre 8.000 e 10.000 anos atrás, deixam evidente que esta cultura é uma das mais antigas, dentre as que foram domesticadas nas Américas (UGENT; PETERSON, 1988; PIPERNO, 2011).

Diferentemente de outras culturas, como o milho (*Zea mays*) e o trigo (*Triticum* sp.), a *I. batatas* cultivada não sofreu um efeito tão drástico de gargalo genético durante o processo de domesticação e é provável que isto tenha resultado na retenção de grande parte da diversidade genética das populações ancestrais selvagens (ROULLIER et al., 2013a). A principal característica relacionada com a síndrome de domesticação desta cultura é o desenvolvimento de raízes tuberosas voltadas à alimentação (RAVI et al., 2009). Roullier et al. (2013b) postularam que durante o processo de domesticação, os agricultores coletavam e multiplicavam, durante vários ciclos, mutantes selvagens que apresentavam raízes tuberosas. O fluxo gênico destas espécies selvagens teria diminuído progressivamente com o cultivo de *I. batatas*, favorecendo a recombinação entre genótipos cultivados produtores de tubérculos e estabilizando a formação e o desenvolvimento de raízes tuberosas.

1.1.3 Distribuição e aspectos socioeconômicos

A batata-doce é a sétima mais importante cultura alimentar em todo o mundo, depois do trigo (*Triticum aestivum*), arroz (*Oryza sativa*), milho (*Zea mays*), batata (*Solanum tuberosum*), cevada (*Hordeum vulgare*) e mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) (CIP, 2016). Mais de 103 milhões de toneladas são produzidas globalmente a cada ano, das quais 21% representam a produção em países com déficit alimentar na população de baixa renda, 15% em países menos desenvolvidos e apenas 0,5% em países da União Europeia (FAO, 2013).

A batata-doce é cultivada em 111 países, sendo que aproximadamente 80% da produção são obtidos na Ásia, apenas 16% na África e 4% no restante do mundo. A China é a maior produtora de batata-doce, tendo produzido, em 2013, mais de 70 milhões de toneladas, o que equivale a aproximadamente 69% da produção mundial. O Brasil é o principal produtor da América do Sul, e ocupou, em 2013, o 20º lugar entre os países que mais produziram batata-doce no mundo (FAO, 2013).

A batata-doce é a sexta hortaliça mais cultivada no Brasil, com uma área de cultivo estimada em 40.383 hectares e uma produção anual de 525.814 toneladas. É um cultivo de grande valor socioeconômico para a Região Sul, responsável por 44,41% da safra nacional, seguida pelo Nordeste (28,57%) e pelo Sudeste (22,87%). O Estado de São Paulo, atualmente, é o segundo maior produtor brasileiro de batata-doce, com quase 75 mil toneladas (14,26%) perdendo apenas para o Estado do Rio Grande do Sul, que produz 30,67% da produção nacional (PAM, 2014).

As raízes tuberosas da batata-doce são uma boa fonte de energia (açúcares e outros carboidratos), cálcio, ferro e outros minerais, além de vitaminas, principalmente a C. Algumas cultivares são ricas em vitamina A, particularmente as de polpa alaranjada (STEINBAUER; KUSHMAN, 1971; KAY, 1973; FOLQUER, 1978). Outras cultivares, como as de polpa arroxeada, apresentam atividade antioxidante (KANO et al., 2005), antimutagenicidade (YOSHIMOTO et al., 1999), efeito anti-hiperglicêmico (MATSUI et al., 2002), hepatoprotetivo e anti-hipertensivo (SUDA et al., 2003).

A batata-doce é uma planta muito versátil, que fornece vários produtos, tais como alimentos frescos, amido processado, folhagens para animais e álcool (LEBOT, 2009). No tocante aos biocombustíveis, tem sido considerada um substrato promissor, uma vez que tem um maior rendimento de amido por unidade de área cultivada quando comparada com os grãos (KIM; HAMDY, 1985; ZISKA et al., 2009; CAO et al., 2011; LEE et al., 2012; DUVERNAY; CHINN; YENCHO, 2013).

1.2 Caracterização morfoagronômica e variabilidade genética

A caracterização e avaliação de recursos genéticos, sejam eles mantidos *in situ* ou *ex situ*, é parte imprescindível no processo de conservação (GEPTS, 2006). Além disso, o melhor conhecimento da variabilidade genética de uma cultura permite o aperfeiçoamento dos programas de melhoramento de cultivares (KARURI et al., 2010).

A identificação da base genotípica dos caracteres de importância econômica e das causas das interações evolutivas, ecológicas e humanas que levaram ao aparecimento destas características, irá facilitar tanto a conservação, como a utilização destes recursos genéticos (GEPTS, 2006). A caracterização dos recursos genéticos de uma cultura baseia-se na avaliação de caracteres morfológicos e de desempenho agrônomo, complementados por técnicas moleculares (GEPTS, 2006; KHOURY; LALIBERTÉ; GUARINO, 2010).

A caracterização morfoagronômica tem sido utilizada para várias propostas, incluindo a identificação de duplicatas, estudos dos padrões de diversidade genética e correlações com características de importância agronômica (KARURI et al., 2010). Este tipo de caracterização torna mais eficiente a utilização de coleções de germoplasma em um programa de melhoramento genético, uma vez que pode fornecer diretamente informações úteis sobre as relações genéticas e específicas de caracteres com importância agronômica (ELAMEEN et al., 2008; MANIFESTO et al., 2010; YADA et al., 2010; NEIVA et al., 2011; MOULIN et al., 2012; LAURIE et al., 2013; MAQUIA et al., 2013).

Para a obtenção destas informações utilizam-se descritores específicos para cada espécie, não se necessitando de equipamentos sofisticados na avaliação, mas empregando-se, em vez disso, uma abordagem simples para o conhecimento das características morfológicas e agronômicas (MANIFESTO et al., 2010). Para a cultura da batata-doce, os descritores utilizados na caracterização morfológica são propostos pelo *International Board for Plant Genetic Resources* (IBPGR), *International Potato Center* (CIP), e *Asian Vegetable Research and Development Center* (AVRDC) (HUAMAN, 1991).

Caracteres morfoagronômicos têm sido amplamente utilizados para distinguir acessos de batata-doce (MOK; SCHMIEDICHE, 1998; HUAMAN; AGUILAR; ORTIZ, 1999; OLIVEIRA et al., 2000; RITSCHER; HUAMÁN, 2002; VEASEY et al., 2007; ELAMEEN et al., 2008; TAIRO; MNENEY; KULLAYA, 2008; YADA et al., 2010; KARURI et al., 2010; MANIFESTO et al., 2010; NEIVA et al., 2011; MOULIN et al., 2012, 2014; FONGOD; MIH; NKWATOH, 2012; MARTINS et al., 2012; LAURIE et al., 2013; MAQUIA et al., 2013; AZEVEDO et al., 2015; SOLANKEY; SINGH; SINGH, 2015).

Na maioria das avaliações, os caracteres que mais contribuíram para a divergência genética entre os acessos estão relacionados com a folha, tais como o seu contorno, o tipo de lóbulo e a forma do lóbulo central (TAIRO; MNENEY; KULLAYA, 2008; MANIFESTO et al., 2010; NEIVA et al., 2011; LAURIE et al., 2013; MAQUIA et al., 2013).

Caracterizações morfoagronômicas têm sido feitas em várias partes do mundo. As cores predominantes da polpa nas províncias de Muara e Irian Jaya, na Indonésia, são branca e creme, respectivamente (MOK; SCHMIEDICHE, 1998). Na avaliação para o mesmo caráter, observou-se, na região Sudeste do Brasil (VEASEY et al., 2007; MOULIN et al., 2014), e na África do Sul (LAURIE et al., 2013), que a maioria (mais de 70 %) dos agricultores preferem cultivar plantas com raízes de coloração creme.

1.3 Morfometria geométrica

Darwin, em sua viagem a bordo do H.M.S. Beagle ao redor do mundo, já descrevia a onipresente variação morfológica existente na natureza, como se pode ver nessa citação referente a tentilhões, aves da família Fringilidae:

*“The most curious fact is the perfect gradation in the size of the beaks in the different species of Geospiza, from one as large as that of a hawfinch to that of a chaffinch, and [...] even to that of a warbler [...]”*¹ (DARWIN, 1845, p. 380).

Desde a publicação dos trabalhos de Darwin com os tentilhões até hoje muitas características quantitativas avaliadas nos indivíduos vêm sendo quantificadas utilizando-se de medidas univariadas, como o comprimento, largura e espessura. (AFUAPE; OKOCHA; NJOKU, 2011; THIYAGU et al., 2013; BUHK et al., 2015; MÉNDEZ-TOVAR et al., 2015). Os resultados obtidos destas mensurações tradicionais, muitas vezes, são combinados para reduzir a dimensionalidade dos dados, sendo transformados em medidas multivariadas, como os componentes principais. No entanto, existe um problema na interpretação biológica gerada por esta análise, pois geralmente o primeiro componente principal (CP1) sempre irá representar o formato geral e os outros componentes principais explicarão qualquer outra característica que não seja algo relacionado à forma do objeto avaliado (KLINGENBERG, 1996; ADAMS; ROHLF; SLICE, 2004). Além disso, as informações obtidas por estes outros componentes principais não representam nenhuma forma interpretável, em particular, podendo a mesma não ser reificada (FOSTER; PODOS; HENDRY, 2007).

Algumas limitações impostas por estas medidas univariadas podem ser contornadas com a aplicação da morfometria geométrica (ZELDITCH et al., 2004). Esta técnica é uma abordagem relativamente recente que fornece uma descrição da forma utilizando coordenadas de referência (BOOKSTEIN, 1996; MITTEROECKER; GUNZ, 2009). Recentemente, tornou-se uma ferramenta de pesquisa importante para os evolucionistas e biólogos que estudam o desenvolvimento dos organismos, dentre outras áreas correlatas (KLINGENBERG, 2010; ADAMS; ROHLF; SLICE, 2013).

Utilizando-se apenas folhas de plantas, pesquisadores têm realizado algumas aplicações práticas com o auxílio da morfometria geométrica, como na identificação de espécies (PLOTZE et al., 2005; AGARWAL et al., 2006; CAMARGO NETO et al., 2006;

¹ O fato mais curioso é a perfeita gradação no **tamanho** do bico nas diferentes espécies de *Geospiza*, desde um tão grande como o de um trinca-pinhas até o de um tentilhão-comum e, [...] mesmo o de um pássaro canoro.

WHITE; FEINER; KOPYLEC, 2006; CHENG; JHOU; LIOU, 2007; HEARN, 2009; MAGRINI; SCOPPOLA, 2010; VISCOSI; LOY; FORTINI, 2010; VIEIRA; MAYO; DE ANDRADE, 2014; JIN et al., 2015), na agricultura de precisão (CAMARGO NETO; MEYER, 2005; GEBHARDT et al., 2006; HERRERA; DORADO; RIBEIRO, 2014), para o entendimento das mudanças climáticas (HUFF; WILF; AZUMAH, 2003; ROYER et al., 2005; PEPPE et al., 2011; ZHANG et al., 2011; SCHMERLER et al., 2012; GLENNON; CRON, 2015) e na identificação de variação inter- e intraespecífica (PLOTZE et al., 2005; ANDRADE et al., 2008, 2010; VISCOSI et al., 2009; VISCOSI; LOY; FORTINI, 2010; ADEBOWALE et al., 2012; MIROUZE; STAQUET; VEZY, 2012; CAO et al., 2014; CARDOZO et al., 2014; HUANG; LIU, 2014).

1.3.1 Métodos de análises da forma em folhas

Dentro da morfometria geométrica, uma das ferramentas que tem recebido mais atenção pelos pesquisadores é o contorno bidimensional da forma da folha. Há ao menos três razões para isso (COPE et al., 2012):

- a) a forma tem talvez o poder mais discriminativo. Em muitos casos, o tamanho da folha é altamente influenciado pelo ambiente, enquanto que a forma é mais herdável;
- b) facilidade em extrair a informação do contorno da folha. Se uma folha é fotografada sobre um plano de fundo branco ou preto e uma técnica simples é utilizada, pode-se decompor o contorno da folha em muitas variáveis numéricas;
- c) e a existência de numerosas técnicas morfométricas que podem ser aplicadas para a forma da folha que já provaram seu valor em outros problemas biológicos.

Algumas abordagens envolvendo análises da forma em folhas podem ser encontradas na literatura, incluindo a análise de Fourier e análise de pontos de referência, tratadas a seguir.

1.3.1.1 Análise elíptica de Fourier

Uma das técnicas mais comuns de análise morfométrica aplicadas em folhas é a análise elíptica de Fourier (AEF), originalmente proposto por Kuhl e Giardina (1982). Esta abordagem tem se mostrado eficiente na discriminação de grupos, mesmo entre populações intraespecíficas (MCLELLAN; ENDLER, 1998; ANDRADE et al., 2008, 2010; SOARES et al., 2011; MIROUZE; STAQUET; VEZY, 2012; CARDOZO et al., 2014).

AEF decompõe uma curva em um conjunto de elipses harmônicas, onde cada uma delas é definida pelos quatro coeficientes ou descritores elípticos de Fourier (KUHL;

GIARDINA, 1982; FERSON; ROHLF; KOEHN, 1985). A correspondência da AEF com o contorno real pode ser especificada em qualquer grau de precisão com o aumento do número de harmônicas (Figura 1.1). Porém, a vantagem de uma maior fidelidade com o aumento do número de harmônicas é compensada pelo aumento no ruído estatístico (MACLEOD, 2012). Hearn (2009) sugere que 10 harmônicas de Fourier são necessárias para representar com acurácia a distinção entre muitas espécies, quando se utiliza do contorno da folha.

Figura 1.1 - Efeito da mudança no número de harmônicas na reconstrução do contorno na folha. Quanto mais harmônicas são utilizadas para construir o contorno original, mais detalhes são preservados. Figura adaptada de Cope et al. (2012)

Uma das vantagens da AEF é que os contornos originais podem ser reconstruídos através da transformação inversa dos coeficientes de Fourier (FURUTA et al., 1995) e isso é útil para a visualização de áreas com alterações na forma, dentre os objetos de interesse (ADEBOWALE et al., 2012).

A análise de componentes principais (ACP) é um método comum que auxilia na discriminação e redução da dimensionalidade em um grande conjunto de dados, como aqueles produzidos pela AEF (SUEUR et al., 2010). A ACP transforma um sistema de coordenadas original em um conjunto de variáveis conhecidas como componentes principais, que são os autovetores de uma matriz de variância-covariância (MANLY, 2008). Estes componentes principais são concebidos para explicar o máximo da variância possível com o menor número de variáveis, sob a restrição de que estas variáveis são linearmente não correlacionadas (ZELDITCH et al., 2004).

1.3.1.2 Análises baseadas em pontos de referência

Outra técnica bastante utilizada é a baseada em pontos de referência, que utiliza as coordenadas de pontos biológicos como variáveis (ROHLF; MARCUS, 1993). Um ponto de referência é um lócus anatômico discreto que pode ser reconhecido como o mesmo lócus em todas os organismos em estudo (ZELDITCH et al., 2004). Para a escolha deste ponto deve-se levar em consideração a homologia anatômica, a consistência da posição relativa, a adequada cobertura da forma, e a repetibilidade (ZELDITCH et al., 2004).

Esta metodologia tem sido aplicada com mais sucesso em animais e tem a vantagem de ser facilmente compreendida (ADAMS; ROHLF; SLICE, 2004). No entanto, existem várias limitações quando se aplica esta técnica em folhas e outros órgãos de plantas; dentre elas, a dificuldade de uma extração automática dos pontos de referência e a inconsistência destes pontos, às vezes na mesma espécie, ou entre espécies ou táxons diferentes (COPE et al., 2012).

1.4 Bioetanol

O bioetanol é um combustível limpo e renovável que está ganhando cada vez mais atenção, devido aos seus benefícios ambientais (BAEYENS et al., 2015). Globalmente, os problemas de poluição ambiental estão aumentando em uma taxa alarmante devido ao uso dos combustíveis fósseis como fonte de energia (CHU et al., 2012).

O esgotamento desta matriz energética, bem como as mudanças climáticas, têm levado à adoção de novas iniciativas para que se aumentem as fontes alternativas de combustíveis, principalmente as derivadas de matéria-prima biológica (ZISKA et al., 2009), com destaque para as culturas sacarinas, como a cana-de-açúcar, e as amiláceas, como o milho (DIAZ; CHINN; TRUONG, 2014).

1.4.1 Produção global e usos do bioetanol

O bioetanol é considerado como uma alternativa de combustível renovável com grande potencial para substituir os combustíveis derivados do petróleo (DIAS et al., 2013). Segundo dados da Renewable Fuels Association (2016), a produção mundial de bioetanol saltou dos 50 bilhões de litros, em 2007, para quase 97 bilhões, em 2015, contribuindo acentuadamente para a redução da emissão de gases que ocasionam o efeito estufa.

O maior produtor de bioetanol são os Estados Unidos, com 58% da produção mundial, seguido do Brasil com 25% (RENEWABLE FUELS ASSOCIATION, 2016). O Brasil produz o etanol a partir da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), enquanto os Estados Unidos, do milho

(*Zea mays*) e do trigo (*Triticum aestivum*). A cana-de-açúcar apresenta uma concentração de açúcar maior que a do milho (cerca de 30% a mais), além de ser mais fácil de extrair (BAEYENS et al., 2015). O bagaço da cana-de-açúcar, o principal resíduo do processo de produção do bioetanol, é geralmente usado pelas usinas somente para geração de energia elétrica, apesar de ter grande potencial para a produção de etanol, por meio da celulose (RABELO et al., 2011; HOFSETZ; SILVA, 2012; DA SILVEIRA et al., 2015).

A maior utilização do etanol é como combustível nos motores veiculares e como aditivo em combustível (BAEYENS et al., 2015). Segundo a agência Nacional do Petróleo - ANP (2015), os automóveis que circulam no Brasil utilizam o álcool hidratado (95% de etanol e 5% de água) e o anidro. O hidratado é utilizado diretamente em motores desenvolvidos para este fim, enquanto que o anidro é utilizado como mistura na gasolina (25% etanol e 75% gasolina). Nos Estados Unidos, Europa, China, Índia e África do Sul apenas 10%-15% do etanol são misturados aos derivados do petróleo (BAEYENS et al., 2015).

Além de sua utilização como combustível veicular, também é empregado na fabricação de produtos farmacêuticos e cosméticos (DEMIRBAS, 2009), na produção de hidrogênio (DOLGYKH et al., 2006; CHENG et al., 2012; CHU et al., 2012; KRALEVA et al., 2015) e de 1,3-butadieno, polímero utilizado na fabricação de borracha sintética (CHAE et al., 2014).

1.4.2 Matérias-primas para produção de bioetanol

O bioetanol pode ser produzido por uma variedade de carboidratos, incluindo os monossacarídeos, dissacarídeos e polissacarídeos, ou formas glico-conjugadas como as glicoproteínas e glicolipídios (CORBIN et al., 2015). O amido e a celulose são polissacarídeos e podem ser hidrolisados em dissacarídeos e/ou monossacarídeos antes da fermentação do etanol (BAEYENS et al., 2015). No entanto, devido à estrutura da parede das células vegetais, a biomassa celulósica é mais difícil de se quebrar em açúcares do que o amido (ABRAMSON; SHOSEYOV; SHANI, 2010). Para superar esta complexidade estrutural da biomassa vegetal, várias pesquisas têm sido desenvolvidas para tornar este carboidrato mais acessível (MARRIOTT et al., 2014; MORENO et al., 2015).

No mundo inteiro existe o interesse em descobrir fontes novas e baratas de carboidrato para a produção do bioetanol (MOHANTY et al., 2009; CEYLAN; UNAL, 2015). Atualmente, o principal foco são os biocombustíveis feitos a partir de culturas, como milho, cana-de-açúcar e soja, para o uso como fontes de energia renováveis (BALAT; BALAT, 2009). Embora possa parecer benéfico usar materiais vegetais renováveis como fonte de

biocombustível, a sua utilização tem levantando muitas preocupações acerca de alguns problemas ambientais, incluindo a escassez de alimentos e o grave depauperamento do solo (PIMENTEL, 2008).

Para a escolha da matéria-prima a ser utilizada na produção do bioetanol, deverão ser levados em consideração (GNANSOUNOU; DAURIAT, 2005): a composição química da biomassa; as práticas de cultivo; a disponibilidade de áreas para o plantio; a utilização dos recursos; o balanço energético; a emissão de gases de efeito estufa, de gases acidificantes e de gases destruidores da camada de ozônio; a absorção de água e de minerais do solo; a quantidade de pesticidas utilizados; a erosão do solo; a influência sobre a biodiversidade; o preço de produção da biomassa; os custos de logística, com o transporte e com o armazenamento da biomassa; o valor econômico direto das matérias-primas, levando em consideração os seus subprodutos; a criação ou manutenção de empregos; e a disponibilidade de água.

As matérias-primas para a produção do bioetanol podem ser divididas em três grupos principais (BALAT; BALAT, 2009):

a) Açúcares – que podem ser encontrados na cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), no sorgo sacarino (*Sorghum bicolor*), em frutas e na beterraba (*Beta* spp.). Os açúcares são convertidos diretamente em etanol via fermentação, após o processo de extração;

b) Amidos – encontrados em grãos, como no milho (*Zea mays*), no sorgo granífero (*Sorghum bicolor*), no trigo (*Triticum aestivum*), na cevada (*Hordeum vulgare*) e no arroz (*Oryza sativa*), e em tubérculos, como na mandioca (*Manihot esculenta*), na batata (*Solanum tuberosum*) e na batata-doce (*Ipomoea batatas*). Os amidos são convertidos em açúcares via hidrólise e posteriormente fermentados;

c) Materiais lignocelulósicos – encontrados em madeiras, gramíneas e palhas. A celulose e a hemicelulose precisam ser convertidas em açúcares via hidrólise para posterior fermentação.

A cana-de-açúcar é a matéria-prima mais utilizada no Brasil para produzir etanol (MASSON et al., 2015). Ela possui os açúcares fermentescíveis que são metabolizados pela levedura alcoólica, não necessitando de digestão prévia na produção do mosto, como ocorre com as amiláceas (AGUSTINI; EMILIO-JUNIOR, 2007).

Grãos de milho, utilizados para a produção de bioetanol, são eficientes quando utilizadas cultivares com produtividade ($8,0 \text{ t.ha}^{-1}$) e rendimento de etanol ($417,0 \text{ L.t}^{-1}$) por hectare elevados (GUMIENNA et al., 2016). Pode-se obter o etanol desta matéria-prima pelos métodos de cozimento com e sem pressão. Este último método permite a obtenção de rendimentos altos de etanol, enquanto economiza energia e reduz o tempo de fermentação. Já o método de cozimento sob pressão é muito mais eficaz para materiais amiláceos, porém os custos de produção são maiores, devido ao elevado consumo de energia durante o processo de cozimento (SHIGECHI et al., 2004).

Raízes da mandioca contêm cerca de 60% de amido, que podem ser utilizados na produção de bioetanol (ANYANWU et al., 2015). Além disso, o amido pode ser extraído com facilidade, e então hidrolisado, fermentado e destilado para a obtenção do bioetanol (ADELEKAN, 2010).

A batata-doce tem sido considerada como um substrato promissor para a produção de bioetanol, devido à sua elevada produção de amido por unidade de área cultivada quando comparada com outras culturas (ZISKA et al., 2009; SRICHUWONG et al., 2012; DUVERNAY; CHINN; YENCHO, 2013; LAREO et al., 2013). De acordo com Taborda et al. (2015), a comparação do desempenho na produção de etanol em várias culturas mostra que a batata-doce apresenta potencial, com rendimento de 2.496 litros por hectare (Tabela 1.1). Ressalte-se que os valores apresentados nesta tabela, para a batata-doce, são de variedades normalmente destinadas ao consumo humano.

Embora a batata-doce ainda seja muito pouco utilizada para a obtenção de etanol, algumas cultivares, obtidas em programas de melhoramento genético, têm apresentado rendimentos de etanol maiores que os de cana-de-açúcar (DA SILVEIRA, 2008).

Tabela 1.1 – Produtividade e rendimento de etanol de diferentes culturas energéticas, no Brasil

Fontes de carboidratos	Produtividade anual (t/ha)	Teor de carboidrato (%)	Rendimento de etanol	
			Litros/tonelada	Litros/hectare
Cana-de-açúcar	75	14	94	7046
Sorgo sacarino	80	12	81	6442
Milho	5	80	537	2684
Batata-doce	13	31	208	2496
Mandioca	14	25	168	2349

Fonte: (Adaptado de TABORDA et al., 2015)

1.4.3 Etanol de batata-doce

Estudos vêm sendo desenvolvidos para averiguar o potencial do bioetanol derivado da batata-doce no Brasil (SILVEIRA, 2008; GONÇALVES NETO et al., 2011; MARTINS et al., 2012; TABORDA et al., 2015), na China (CAO et al., 2011; WANG et al., 2013), nos Estados Unidos (ZISKA et al., 2009; SANTA-MARIA et al., 2011; DUVERNAY; CHINN; YENCHO, 2013), no Uruguai (FERRARI; GUIGOU; LAREO, 2013; LAREO et al., 2013) e na Itália (MONTEFUSCO et al., 2014).

As batatas-doces desenvolvidas para a produção de bioenergia são selecionadas com base no teor de amido e na produtividade agrícola e não são utilizadas como fonte de alimento (DUVERNAY et al., 2013), em virtude de sua aparência, cor e sabor (FERRARI et al., 2013). Além disso, pode-se produzir o bioetanol utilizando-se de batatas-doces que sofreram danos na colheita, bem como aquelas impróprias, por vários motivos, para o consumo *in natura* (DEWAN et al., 2013).

O sucesso da produção do etanol a partir da batata-doce depende da conversão do amido em açúcares fermentescíveis (DEWAN et al., 2013). O processo de obtenção do etanol a partir de uma fonte amilácea pode ser constituído de várias etapas, conforme a Figura 2.1.

Figura 2.1 - Diagrama demonstrando simplificadaamente a produção convencional de etanol em batata-doce. Adaptado e modificado de Cinelli et al. (2015).

O amido é um homopolissacarídeo composto por cadeias lineares e cadeias ramificadas de amilose e amilopectina (WANG et al., 2015). É sintetizado nas folhas, onde serve como carboidrato de reserva temporário, acumulando-se nos cloroplastos durante o dia e servindo como fonte principal para a síntese de sacarose citossólica durante a noite (TESTER; KARKALAS; QI, 2004). Essa sacarose é então transportada para os órgãos de armazenamento das plantas, como sementes, frutas, tubérculos e raízes (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Para a conversão do amido em açúcares, a batata-doce é hidrolisada por enzimas (HE et al., 2009; ZHANG; FENG, 2010; ZHANG et al., 2011, 2013; DIAZ; CHINN; TRUONG, 2014; MASIERO et al., 2014; MONTEFUSCO et al., 2014), ácidos (KIM; HAMDY, 1985) ou líquidos iônicos (CHUN et al., 2010). Destas opções, a mais popular é o uso das enzimas,

entre as quais a α -amilase e a amiloglicosidase, que catalisam a hidrólise da biomassa do amido (CINELLI et al., 2015). A α -amilase catalisa a ligação glicosídica α -1,4 da molécula de amido, convertendo-a em maltose, glicose e dextrinas, enquanto que a amiloglicosidase quebra tanto a ligação glicosídica α -1,4 quanto a α -1,6 do amido e produz glicose (BATEY, 1982). Na etapa de fermentação da batata-doce, o mais comum é a utilização de microrganismos como *Saccharomyces cerevisiae* (ZHANG; FENG, 2010; LEE et al., 2012; DUVERNAY; CHINN; YENCHO, 2013) e *Zymomonas mobilis* (ZHANG; FENG, 2010; DEWAN et al., 2013).

Após a conclusão da fermentação, o líquido fermentado é destilado em uma ou mais etapas, em colunas de destilação, por meio das quais ele é aquecido até ferver. Inicialmente, o álcool entra em ebulição e o seu vapor, uma vez condensado, forma um líquido de maior concentração alcoólica, de modo que o etanol destilado pode ser então desidratado (CINELLI et al., 2015).

1.5 Objetivos e justificativas

Esta tese teve como objetivos: 1) avaliar o nível de diversidade genética em acessos de batata-doce mantida pelos agricultores tradicionais do litoral Norte e do Vale do Ribeira no Estado de São Paulo, por meio de descritores morfológicos e agronômicos; 2) avaliar o potencial da morfometria geométrica na análise da diversidade genética, por meio do contorno do limbo foliar; 3) Identificar possíveis genótipos para serem utilizados como progenitores em programas de melhoramento visando à produção de bioetanol.

A falta de incentivo para a agricultura tradicional, aliada às mudanças de hábito de consumo, principalmente em comunidades tradicionais, têm provocado a perda de vários genótipos que eram mantidos por estes agricultores. Em face desta realidade, a caracterização destes genótipos tradicionais pode auxiliar na tomada de decisões para adoção de estratégias de conservação. Por isso, foram empreendidas expedições de coleta com o intuito de avaliar o nível de diversidade mantido pelos agricultores do litoral Norte e do Vale do Ribeira, São Paulo.

Além disso, vale ressaltar que estes agricultores tradicionais sempre fizeram a seleção de batata-doce destinada ao seu consumo *in natura*. Geralmente, eles mantêm as variedades em seus quintais/roças quase sempre atraídos por alguma característica que lhes agrada, seja o sabor ou mesmo algum aspecto visual relacionado à forma ou coloração das raízes tuberosas. No entanto, o elevado teor de amido nesta cultura faz com que ela tenha um potencial promissor na produção de bioetanol. Desta forma, com este estudo procurou-se identificar

alguns acessos de batata-doce que possam apresentar uma melhor produção de bioetanol e indicá-los como progenitores para programas de melhoramento.

Outro fator importante seria avaliar o potencial de outras ferramentas que sejam mais práticas e de baixo custo para as análises de diversidade genética, principalmente para as culturas que apresentam um elevado nível de ploidia, como é o caso da batata-doce. Assim, procurou-se averiguar o poder de discriminação da análise elíptica de Fourier (AEF), em acessos de batata-doce.

1.7 Hipóteses

* Existe uma grande variabilidade genética entre os acessos coletados no litoral Norte e do Vale do Ribeira, no Estado de São Paulo, para todos os descritores avaliados, uma vez que estudos recentes ainda apontam a existência de variabilidade na região (VEASEY et al., 2008);

* Não existe qualquer correlação entre distância genética e distância geográfica entre os acessos, como mostram estudos recentes (VEASEY et al., 2008), realizados nesta espécie;

* A análise elíptica de Fourier é uma metodologia eficiente na captura de informações sobre a diversidade genética em folhas de batata-doce, haja vista que estudos com a utilização desta ferramenta, em outras espécies, demonstram a eficácia desta metodologia (ANDRADE et al., 2008; ADEBOWALE et al., 2012);

Referências

ABDULLAH, T.L.; SHOKROLLAH, H.; SIJAM, K.; ABDULLAH, S.N.A. Control of huanglongbing (HLB) disease with reference to its occurrence in Malaysia. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 8, n. 17, p. 4007-4015, 2009.

ABRAMSON, M.; SHOSEYOV, O.; SHANI, Z. Plant cell wall reconstruction toward improved lignocellulosic production and processability. **Plant Science**, Shannon, v. 178, n. 2, p. 61–72, 2010.

ADAMS, D.C.; ROHLF, F.J.; SLICE, D.E. Geometric morphometrics: ten years of progress following the “revolution”. **Italian Journal of Zoology**, Trieste, v. 71, n. 1, p. 5–16, 2004.

ADAMS, D.C.; ROHLF, F.J.; SLICE, D.E. A field comes of age: geometric morphometrics in the 21st century. **Hystrix**, Italy, v. 24, n. 1, p. 7–14, 2013.

ADEBOWALE, A.; NICHOLAS, A.; LAMB, J.; NAIDOO, Y. Elliptic Fourier analysis of leaf shape in southern African *Strychnos* section *Densiflorae* (Loganiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 170, n. 4, p. 542–553, 2012.

ADELEKAN, B.A. Investigation of ethanol productivity of cassava crop as a sustainable

source of biofuel in tropical countries. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 9, n. 35, p. 5643–5650, 2010.

AFUAPE, S.O.; OKOCHA, P.I.; NJOKU, D. Multivariate assessment of the agromorphological variability and yield components among sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) landraces. **African Journal of Plant Sciences**, Cameroon, v. 5, n. 2, p. 123–132, 2011.

AGARWAL, G.; BELHUMEUR, P.; FEINER, S.; JACOBS, D.; KRESS, W.J.; RAMAMOORTHY, R.; BOURG, N.A.; DIXIT, N.; LING, H.; MAHAJAN, D.; RUSSELL, R.; SHIRDHONKAR, S.; SUNKAVALLI, K.; WHITE, S. First steps toward an electronic field guide for plants. **Taxon**, Utrecht, v. 55, n. 3, p. 597–610, 2006.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO-ANP. **O etanol combustível**. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/?pg=57994&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&1436268597572>>. Acesso em: 20 maio 2016.

AUSTINI, D.; EMILIO-JUNIOR, H. Produção de álcool de mandioca a partir de hidrólise enzimática natural. **Synergismu Scientifica UTFPR**, Pato Branco, v. 2, p. 2–5, 2007.

ANDRADE, I.M.; MAYO, S.J.; KIRKUP, D.; VAN DEN BERG, C. Comparative morphology of populations of *Monstera* Adans. (Araceae) from natural forest fragments in Northeast Brazil using elliptic Fourier Analysis of leaf outlines. **Kew Bulletin**, Richmond, v. 63, n. 2, p. 193–211, 2008.

_____. Elliptic fourier analysis of leaf outline shape in forest fragment populations of *Anthurium sinuatum* and *A. pentaphyllum* (Araceae) from Northeast Brazil. **Kew Bulletin**, Richmond, v. 65, n. 1, p. 3–20, 2010.

ANYANWU, C.N.; IBETO, C.N.; EZEHOA, S.L.; OGBUAGU, N.J. Sustainability of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) as industrial feedstock, energy and food crop in Nigeria. **Renewable Energy**, Brighton, v. 81, p. 745–752, 2015.

AUSTIN, D.F. The taxonomy, evolution and genetic diversity of sweet potatoes and related wild species. In: SWEET POTATO PLANNING CONFERENCE, 1., 1987, Lima. **Exploration, maintenance, and utilization of sweet potato genetic resources**. Lima: CIP, 1987. p. 27–59.

AZEVEDO, A.M.; ANDRADE JÚNIOR, V.C.; FIGUEIREDO, J.A.; PEDROSA, C.E.; VIANA, D.J.S.; LEMOS, V.T.; NEIVA, I.P. Divergência genética e importância de caracteres em genótipos de batata-doce visando a produção de silagem. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, Recife, v. 10, n. 3, p. 479–484, 2015.

BAEYENS, J.; KANG, Q.; APPELS, L.; DEWIL, R.; LV, Y.; TAN, T. Challenges and opportunities in improving the production of bio-ethanol. **Progress in Energy and Combustion Science**, Napoli, v. 47, p. 60–88, 2015.

BALAT, M.; BALAT, H. Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. **Applied Energy**, New York, v. 86, n. 11, p. 2273–2282, 2009.

BATEY, I. Starch analysis using thermostable alpha-amylases. **Starke**, Weinheim, v. 34, n. 4, p. 125–128, 1982.

BOOKSTEIN, F.L. Biometrics, biomathematics and the morphometric synthesis. **Bulletin of Mathematical Biology**, Elmsford, v. 58, n. 2, p. 313–365, 1996.

BUHK, N.; ZHAO, L.; LI, H.; ALBACH, D.C. Molecular systematics and morphometrics in *Veronica* subsect. *Canae* (Plantaginaceae). **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 301, n. 8, p. 1967–1979, 2015.

BUTELER, M.I.; LABONTE, D.R.; JARRET, R.L.; MACCHIAVELLI, R.E. Microsatellite-based paternity analysis in polyploid sweet potato. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 127, n. 3, p. 392–396, 2002.

CAO, E.P.; CONSTANTINO-SANTOS, D.M.; RAMOS, L.A.P.; SANTOS, B.S.; QUILANG, J.P.; MOJICA, R.M. Molecular and morphological differentiation among *Coffea* (Rubiaceae) varieties grown in the farms of Cavite Province, Philippines. **Philippine Science Letters**, Philippines, v. 7, n. 2, p. 387–397, 2014.

CAO, Y.; TIAN, H.; YAO, K.; YUAN, Y. Simultaneous saccharification and fermentation of sweet potato powder for the production of ethanol under conditions of very high gravity. **Frontiers of Chemical Science and Engineering**, Beijing, v. 5, n. 3, p. 318–324, 2011.

CAMARGO NETO, J.; MEYER, G.E. Crop species identification using machine vision of computer extracted individual leaves. **Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering**, Bellingham, v. 59, n. 1, p. 01–11, 2005.

CAMARGO NETO, J.; MEYER, G.E.; JONES, D.D.; SAMAL, A.K. Plant species identification using elliptic fourier leaf shape analysis. **Computers and Electronics in Agriculture**, Amsterdam, v. 50, n. 2, p. 121–134, 2006.

CARDOZO, A.P.; GODINHO TEMPON, L.; MOREIRA DE ANDRADE, I.; MAYO, S.J.; DE CAMARGO SMIDT, E. A morphometric and taxonomic study of *Anthurium augustinum* complex (Araceae), endemic to the Brazilian Atlantic Forest. **Feddes Repertorium**, Berlin, v. 125, n. 1/2, p. 43–58, 2014.

CEYLAN, S.; UNAL, S. The saccharification of hazelnut husks to produce bioethanol. **Energy Sources. Part A - Recovery, Utilization and Environmental Effects**, Philadelphia, v. 37, n. 9, p. 972–979, 2015.

CHAE, H.-J.; KIM, T.-W.; MOON, Y.-K.; KIM, H.-K.; JEONG, K.-E.; KIM, C.-U.; JEONG, S.-Y. Butadiene production from bioethanol and acetaldehyde over tantalum oxide-supported ordered mesoporous silica catalysts. **Applied Catalysis B: Environmental**, Massachusetts, v. 150/151, p. 596–604, 2014.

CHENG, H.H.; WHANG, L.M.; WU, C.W.; CHUNG, M.C. A two-stage bioprocess for hydrogen and methane production from rice straw bioethanol residues. **Bioresource Technology**, New York, v. 113, p. 23–29, 2012.

CHENG, S.; JHOU, J.; LIOU, B. PDA plant search system based on the characteristics of leaves using fuzzy function. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON INDUSTRIAL, ENGINEERING AND OTHER APPLICATIONS OF APPLIED INTELLIGENT SYSTEMS, 20., 2007, Kyoto. **Proceedings...** Berlin; Heildeberg: Springer, 2007. p. 834–844.

CHU, C.Y.; SEN, B.; LAY, C.-H.; LIN, Y.-C.; LIN, C.-Y. Direct fermentation of sweet potato to produce maximal hydrogen and ethanol. **Applied Energy**, New York, v. 100, p. 10–18, 2012.

CHUN, J.A.; LEE, J.W.; YI, Y.B.; HONG, S.S.; CHUNG, C.H. Direct conversion of starch to hydroxymethylfurfural in the presence of an ionic liquid with metal chloride. **Starch/Staerke**, Weinheim, v. 62, p. 326–330, 2010.

CINELLI, B.A.; CASTILHO, L.R.; FREIRE, D.M.G.; CASTRO, A.M. A brief review on the emerging technology of ethanol production by cold hydrolysis of raw starch. **Fuel**, Guildford, v. 150, p. 721–729, 2015.

CIP. **Centro Internacional de La Papa.** Disponivel em: <<http://cipotato.org/swettpotato/facts-2>> Acesso em: 05/06/2016.

COPE, J.S.; CORNEY, D.; CLARK, J.Y.; REMAGNINO, P.; WILKIN, P. Plant species identification using digital morphometrics: A review. **Expert Systems with Applications**, New York, v. 39, p. 7562–7573, Mar. 2012.

CORBIN, K.R.; HSIEH, Y.S.Y.; BETTS, N.S.; BYRT, C.S.; HENDERSON, M.; STORK, J.; DEBOLT, S.; FINCHER, G.B.; BURTON, R.A. Grape marc as a source of carbohydrates for bioethanol: chemical composition, pre-treatment and saccharification. **Bioresource Technology**, New York, v. 193, p. 76–83, 2015.

DARWIN, C.R. **Journal of researches into the natural history and geology of the countries visited during the voyage of H.M.S. Beagle round the world, under the command of Capt. Fitz Roy, R.N.** 2nd ed. London: Murray, 1860. 380 p.

DEMIRBAS, A. Progress and recent trends in biodiesel fuels. **Energy Conversion and Management**, Belton, v. 50, n. 1, p. 14–34, 2009.

DEWAN, A.; LI, Z.; HAN, B.; KARIM, M.N. Saccharification and fermentation of waste sweet potato for bioethanol production. **Journal of Food Process Engineering**, Connecticut, v. 36, n. 6, p. 739–747, 2013.

DIAS, M.O.S.; JUNQUEIRA, T.L.; ROSSELL, C.E.V.; MACIEL FILHO, R.; BONOMI, A. Evaluation of process configurations for second generation integrated with first generation bioethanol production from sugarcane. **Fuel Processing Technology**, Amsterdam, v. 109, p. 84–89, 2013.

DIAZ, J.T.; CHINN, M.S.; TRUONG, V.-D. Simultaneous saccharification and fermentation of industrial sweet potatoes for ethanol production and anthocyanins extraction. **Industrial Crops and Products**, Leiden, v. 62, p. 53–60, 2014.

DOLGYKH, L.; STOLYARCHUK, I.; DEYNEGA, I.; STRIZHAK, P. The use of industrial

dehydrogenation catalysts for hydrogen production from bioethanol. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 31, n. 11, p. 1607–1610, 2006.

DUVERNAY, W.H.; CHINN, M.S.; YENCHO, G.C. Hydrolysis and fermentation of sweet potatoes for production of fermentable sugars and ethanol. **Industrial Crops and Products**, Leiden, v. 42, p. 527–537, 2013.

ELAMEEN, A.; FJELLHEIM, S.; LARSEN, A.; ROGNLI, O.A.; SUNDHEIM, L.; MSOLLA, S.; MASUMBA, E.; MTUNDA, K.; KLEMSDAL, S.S. Analysis of genetic diversity in a sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) germplasm collection from Tanzania as revealed by AFLP. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 55, n. 3, p. 397–408, 2008.

FAO. **FAO statistical database**. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/home/index.html>>. Acesso em: 05 jun. 2015.

FERRARI, M.D.; GUIGOU, M.; LAREO, C. Energy consumption evaluation of fuel bioethanol production from sweet potato. **Bioresource Technology**, New York, v. 136, p. 377–384, 2013.

FERSON, S.; ROHLF, F.; KOEHN, R. Measuring shape variation of two-dimensional outlines. **Systematic Zoology**, Lawrence, v. 34, p. 59–68, 1985.

FOLQUER, F. **La batata (camote): estudio de la planta y su producción comercial**. San Jose: IICA, 1978. 151 p.

FONGOD, A.G.N.; MIH, A.M.; NKWATOH, T.N. Morphological and agronomical characterization of different accessions of sweet potato (*Ipomoea batatas*) in Cameroon. **International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science**, New Jersey, v. 2, p. 234–245, June 2012.

FOSTER, D.J.; PODOS, J.; HENDRY, A.P. A geometric morphometric appraisal of beak shape in Darwin's finches. **Journal of Evolutionary Biology**, Basel, v. 21, p. 263–275, 2007.

FURUTA, N.; NINOMIYA, S.; TAKAHASHI, N.; OHMORI, H.; UKAI, Y. Quantitative evaluation of soybean (*Glycine max* L. Merr.) leaflet shape by principal component scores based on Elliptic Fourier descriptor. **Japanese Journal of Breeding**, Bunkyo, v. 45, p. 315–320, 1995.

GEBHARDT, S.; SCHELLBERG, J.; LOCK, R.; KÜHBAUCH, W. Identification of broad-leaved dock (*Rumex obtusifolius* L.) on grassland by means of digital image processing. **Precision Agriculture**, Dordrecht, v. 7, p. 165–178, 2006.

GEPTS, P. Plant genetic resources conservation and utilization. **Crop Science**, Madison, v. 46, n. 5, p. 2278, 2006.

GLENNON, K.L.; CRON, G.V. Climate and leaf shape relationships in four *Helichrysum* species from the Eastern Mountain Region of South Africa. **Evolutionary Ecology**, Dordrecht, v. 29, n. 5, p. 657–678, 2015.

- GNANSOUNOU, E.; DAURIAT, A. Ethanol fuel from biomass: a review. **Journal of Scientific & Industrial Research**, New Delhi, v.64, p.809-821, 2005.
- GONÇALVES NETO, Á.C.; MALUF, W.R.; ANTONIO, L.; GOMES, A. Produção de etanol e alimentação animal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 11, p. 1513–1520, 2011.
- GUMIENNA, M.; SZWENGIEL, A.; LASIK, M.; SZAMBELAN, K.; MAJCHRZYCKI, D.; ADAMCZYK, J.; NOWAK, J.; CZARNECKI, Z. Effect of corn grain variety on the bioethanol production efficiency. **Fuel**, Guildford, v. 164, p. 386–392, 2016.
- HE, M.; FENG, H.; BAI, F.; LI, Y.; LIU, X.; ZHANG, Y. Direct production of ethanol from raw sweet potato starch using genetically engineered *Zymomonas mobilis*. **Journal of Microbiology**, Seoul, v. 3, n. 11, p. 721–726, 2009.
- HEARN, D.J. Shape analysis for the automated identification of plants from images of leaves. **Taxon**, Utrecht, v. 58, n. 3, p. 934–954, 2009.
- HERRERA, P.; DORADO, J.; RIBEIRO, Á. A novel approach for weed type classification based on shape descriptors and a fuzzy decision-making method. **Sensors**, Basel, v. 14, n. 8, p. 15304–15324, 2014.
- HOFSETZ, K.; SILVA, M.A. Brazilian sugarcane bagasse: Energy and non-energy consumption. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 46, p. 564–573, 2012.
- HUAMAN, Z. **Descriptors for sweet potato**. Rome: International Board for Plant Genetic Resources, 1991. 133 p.
- HUAMAN, Z.; AGUILAR, C.; ORTIZ, R. Selecting a Peruvian sweet potato core collection on the basis of morphological, eco-geographical, and disease and pest reaction data. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 98, n. 5, p. 840–844, 1999.
- HUANG, J.; CORKE, H.; SUN, M. Highly polymorphic AFLP markers as a complementary tool to ITS sequences in assessing genetic diversity and phylogenetic relationships of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) and its wild relatives. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 49, p. 541–550, 2002.
- HUANG, L.; LIU, Y. Understanding diversity in leaf shape of Chinese *Sagittaria* (Alismataceae) by geometric tools. **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v. 46, n. 6, p. 1927–1934, 2014.
- HUFF, P.M.; WILF, P.; AZUMAH, E.J. Digital future for paleoclimate estimation from fossil leaves? Preliminary results. **Palaios**, Lawrence, v. 18, n. 3, p. 266–274, 2003.
- JARRET, R.L.; AUSTIN, D.F. Genetic diversity and systematic relationships in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) and related species as revealed by RAPD analysis. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 41, n. 3, p. 165–173, 1994.
- JIN, T.; HOU, X.; LI, P.; ZHOU, F. A novel method of automatic plant species identification using sparse representation of leaf tooth features. **Plos One**, San Francisco, v. 10, n. 10, p. 20,

2015.

JOLY, A.B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. 10. ed. São Paulo: Ed. Nacional, 1998. 808 p.

JONES, A. Sweet potato. In: FEHR, W.R.; HADDEY, E.H.H. (Ed.). **Hybridization of crop plants**. Madison: American Society of the Agronomy, 1980. p. 645–655.

KANO, M.K.; AKAYANAGI, T.T.; ARADA, K.H.; AKINO, K.M.; SHIKAWA, F.I. Antioxidative activity of anthocyanins from purple sweet potato, *Ipomoea batatas* cultivar Ayamurasaki. **Bioscience Biotechnology, and Biochemistry**, Tokyo, v. 69, n. 5, p. 979–988, 2005.

KARURI, H.W.; ATEKA, E.M.; AMATA, R.; NYENDE, A.B.; MUIGAI, A.W.T.; MWASAME, E.; GICHUKI, S.T. Evaluating diversity among Kenyan sweet potato genotypes using morphological and SSR markers. **International Journal of Agriculture and Biology**, Beijing, v. 12, n. 1, p. 33–38, 2010.

KAY, D.E. **Root crops**. London: The Tropical Products Institute, 1973. 245 p.

KHOURY, C.; LALIBERTÉ, B.; GUARINO, L. Trends in *ex situ* conservation of plant genetic resources: A review of global crop and regional conservation strategies. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 57, n. 4, p. 625–639, 2010.

KIM, K.; HAMDY, K.M. Acid hydrolysis of sweet potato for ethanol production. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 27, n. 3, p. 316–320, 1985.

KLINGENBERG, C.P. Multivariate allometry. In: MARCUS, L. F.; CORTI, M.; LOY, A.; NAYLOR, G.J.P.; SLICE, D.E. (Ed.). **Advances in morphometrics**. New York: Springer US, 1996. p. 23–49.

_____. Evolution and development of shape: integrating quantitative approaches. **Nature Reviews Genetics**, London, v. 11, n. 9, p. 623–635, 2010.

KOBAYASHI, M. The *Ipomoea trifida* complex closely related to sweet potato. In: SYMPOSIUM OF THE INTERNATIONAL SOCIETY OF TROPICAL ROOT CROPS, 6., 1984, Lima. **Proceedings...** Lima: CIP, 1984. p. 561–568.

KRALEVA, E.; POHL, M.-M.; JÜRGENSEN, A.; EHRLICH, H. Hydrogen production by bioethanol partial oxidation over Ni based catalysts. **Applied Catalysis B: Environmental**, Massachusetts, v. 179, p. 509–520, 2015.

KUHL, F.P.; GIARDINA, C.R. Elliptic Fourier features of a closed contour. **Computer Graphics and Image Processing**, New York, v. 18, n. 3, p. 259–278, 1982.

LAREO, C.; FERRARI, M.D.; GUIGOU, M.; FAJARDO, L.; LARNAUDIE, V.; RAMÍREZ, M.B.; MARTÍNEZ-GARREIRO, J. Evaluation of sweet potato for fuel bioethanol production: hydrolysis and fermentation. **SpringerPlus**, London, v. 2, n. 1, p. 493, 2013.

LAURIE, S.M.; CALITZ, F.J.; ADEBOLA, P.O.; LEZAR, A. Characterization and

evaluation of South African sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) landraces. **South African Journal of Botany**, Scottsville, v. 85, p. 10–16, 2013.

LEBOT, V. **Tropical root and tuber crops**: cassava, sweet potato, yams and aroids. Wallingford: CAB, 2009. 432 p.

LEE, W.S.; CHEN, I.C.; CHANG, C.H.; YANG, S.S. Bioethanol production from sweet potato by co-immobilization of saccharolytic molds and *Saccharomyces cerevisiae*. **Renewable Energy**, Brighton, v. 39, n. 1, p. 216–222, 2012.

MACLEOD, N. The centre cannot hold II: Elliptic fourier analysis. **Palaeontological Association Newsletter**, London, v. 79, n. 1972, p. 29–43, 2012.

MAGOON, M.L.; KRISHNAN, R.; VIJAYA BAI, K. Cytological evidence on the origin of sweet potato. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 40, p. 360–366, 1970.

MAGRINI, S.; SCOPPOLA, A. Geometric morphometrics as a tool to resolve taxonomic problems: the case of *Ophioglossum* species (ferns). In: NIMES, P.L.; LEBE, R.V. **Tools for identifying biodiversity**: progress and problems. Trieste: EUT, 2010. p. 251–256.

MANIFESTO, M.M.; COSTA TÁRTARA, S.M.; ARIZIO, C.M.; ALVAREZ, M.A.; HOMPANERA, N.R. Analysis of the morphological attributes of a sweet potato collection. **Annals of Applied Biology**, London, v. 157, n. 2, p. 273–281, 2010.

MANLY, B.F.J. **Métodos estatísticos multivariados**: uma introdução. 3. ed. Porto Alegre: Bookman, 2008. 230 p.

MAQUIA, I.; MUOCHA, I.; NAICO, A.; MARTINS, N.; GOUVEIA, M.; ANDRADE, I.; GOULAO, L.F.; RIBEIRO, A.I. Molecular, morphological and agronomic characterization of the sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) germplasm collection from Mozambique: genotype selection for drought prone regions. **South African Journal of Botany**, Scottsville, v. 88, p. 142–151, 2013.

MARRIOTT, P.E.; SIBOUT, R.; LAPIERRE, C.; FANGEL, J.U.; WILLATS, W.G.T.; HOFTE, H.; GÓMEZ, L.D.; MCQUEEN-MASON, S.J. Range of cell-wall alterations enhance saccharification in *Brachypodium distachyon* mutants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 111, n. 40, p. 14601–14606, 2014.

MARTINS, E.C.A.; PELUZIO, J.M.; COIMBRA, R.R.; DE OLIVEIRA JUNIOR, W.P. Phenotypic variability and genetic diversity in sweet potato clones in the state of Tocantins. **Revista Ciencia Agronômica**, Ceará, v. 43, n. 4, p. 691–697, 2012.

MASIERO, S.S.; PERETTI, A.; TRIERWEILER, L.F.; TRIERWEILER, J.O. Simultaneous cold hydrolysis and fermentation of fresh sweet potato. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 70, p. 174–183, 2014.

MASSON, I.S.; COSTA, G.H.G.; ROVIERO, J.P.; FREITA, L.A. de; MUTTON, M.A.; MACRELLI, S.; MOGENSEN, J.; ZACCHI, G.; AGUSTINI, D.; JUNIOR, H.E.; DIAS, M.O.S.; CUNHA, M.P. da; MACIEL FILHO, R.; BONOMI, A.; JESUS, C.D. F.; ROSSELL, C.E.V. Produção de bioetanol a partir da fermentação de caldo de sorgo sacarino e cana-de-

açúcar. **Biotechnology for Biofuels**, London, v. 2, n. 8, p. 22, 2015.

MATSUI, T.; EBUCHI, S.; KOBAYASHI, M.; FUKUI, K.; SUGITA, K. T.; ERAHARA, N.; MATSUTO, K. Anti-hyperglycemic effect of diacylated anthocyanin derived from *Ipomoea batatas* cultivar Ayamurasaki can be achieved through the alpha-glucosidase inhibitory action. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 25, p. 7244–7248, 2002.

MCKINNON, R.; STARNES, D.; CARILLET, J.B. **Papua New Guinea & Solomon Islands**. 8th ed. Melbourne: Lonely Planet, 2008. 272 p.

CLELLAN, T.; ENDLER, J.A. The relative success of some methods for measuring and describing the shape of complex objects. **Systematic Biology**, Basingstoke, v. 47, n. 2, p. 264–281, 1998.

MÉNDEZ-TOVAR, I.; MARTÍN, H.; SANTIAGO, Y.; IBEAS, A.; HERRERO, B.; ASENSIO-S.-MANZANERA, M.C. Variation in morphological traits among *Thymus mastichina* (L.) L. populations. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 62, n. 8, p. 1257–1267, 2015.

MIROUZE, E.; STAQUET, A.; VEZY, R. Morphometric and morphological analyses of leaves in two species of Araceae: *Montrichardia linifera* and *Montrichardia arborescens* among different French Guiana populations. **Journal of Ecofog**, Paris, n. 3, p. 1–15, 2012.

MITTEROECKER, P.; GUNZ, P. Advances in geometric morphometrics. **Evolutionary Biology**, London, v. 36, n. 2, p. 235–247, 2009.

MOHANTY, S.K.; BEHERA, S.; SWAIN, M.R.; RAY, R.C. Bioethanol production from mahula (*Madhuca latifolia* L.) flowers by solid-state fermentation. **Applied Energy**, New York, v. 86, n. 5, p. 640–644, 2009.

MOK, I.G.; SCHMIEDICHE, P. **Collecting, characterizing, and maintaining sweet potato germplasm in Indonesia**. Bogor: International Potato Center, 1998. 12 p.

MONTEFUSCO, A.; DURANTE, M.; GRASSI, S.; PIRO, G.; DALESSANDRO, G.; LENUCCI, M.S. Assessment of sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] for bioethanol production in southern Italy. **Plant Biosystems**, Rome, v. 148, n.6, p. 1117–1126, 2014.

MORENO, A.D. ; IBARRA, D.; ALVIRA, P.; TOMAS-PEJO, E.; BALLESTEROS, M. A review of biological delignification and detoxification methods for lignocellulosic bioethanol production. **Critical Reviews in Biotechnology**, Boca Raton, v. 35, n. 3, p. 342–354, 2015.

MOULIN, M.M.; BENTO, C.S.; SANTOS JÚNIOR, A.C.; RODRIGUES, R. Caracterização de acessos de batata-doce baseado em características morfológicas. **Perspectivas Online: Biologia & Saúde**, Campos de Goytacazes, v. 13, n. 4, p. 23–36, 2014.

MOULIN, M.M.; RODRIGUES, R.; GONÇALVES, L.S.; SUDRÉ, C.P.; SANTOS, M.H. dos; SILVA, J.R.P. da. Collection and morphological characterization of sweet potato landraces in north of Rio de Janeiro state. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 286–292, 2012.

NEIVA, I.P.; ANDRADE JÚNIOR, V.C.DE; VIANA, D.J.S.; FIGUEIREDO, J.A.; MENDONÇA FILHO, C.V.; PARRELLA, R.A.D.C.; SANTOS, J.B. Caracterização morfológica de acessos de batata-doce do banco de germoplasma da UFVJM, Diamantina. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 4, p. 537–541, 2011.

OLIVEIRA, A.C.B.; SEDIYAMA, M.A.N.; SEDYIAMA, T.; CRUZ, C.D. Avaliação da divergência genética em batata-doce por procedimentos multivariados. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 22, n. 4, p. 895–900, 2000.

PRODUÇÃO AGRÍCOLA MUNICIPAL. **Culturas temporárias e permanentes**. Rio de Janeiro: IBGE, 2014. v. 41, 100 p.

PEPPE, D.J.; ROYER, D.L.; CARIGLINO, B.; OLIVER, S.Y.; NEWMAN, S.; LEIGHT, E.; ENIKOLOPOV, G.; FERNANDEZ-BURGOS, M.; HERRERA, F.; ADAMS, J.M.; CORREA, E.; CURRANO, E.D.; ERICKSON, J.M.; HINOJOSA, L.F.; HOGANSON, J.W.; IGLESIAS, A.; JARAMILLO, C.A.; JOHNSON, K.R.; JORDAN, G.J.; KRAFT, N.J.B.; LOVELOCK, E.C.; LUSK, C.H.; NIINEMETS, Ü.; PEÑUELAS, J.; RAPSON, G.; WING, S.L.; WRIGHT, I.J. Sensitivity of leaf size and shape to climate: global patterns and paleoclimatic applications. **New Phytologist**, Lancaster, v. 190, n. 3, p. 724–739, 2011.

PIMENTEL, D. **Biofuels, solar and wind as renewable energy systems: benefits and risks**. New York: Springer, 2008. 500 p.

PIPERNO, D.R. The origins of plant cultivation and domestication in the New World Tropics. **Current Anthropology**, Chicago, v. 52, n. S4, p. S453–S470, 2011.

PLOTZE, R.O.; FALVO, M.; PÁDUA, J. G.; BERNACCI, L.C.; VIEIRA, M.L.C.; OLIVEIRA, G.C.X.; BRUNO, O.M. Leaf shape analysis using the multiscale Minkowski fractal dimension, a new morphometric method: a study with *Passiflora* (Passifloraceae). **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 83, p. 287–301, 2005.

RABELO, S.C.; CARRERE, H.; MACIEL FILHO, R.; COSTA, A.C. Production of bioethanol, methane and heat from sugarcane bagasse in a biorefinery concept. **Bioresource Technology**, New York, v. 102, n. 17, p. 7887–7895, 2011.

RAJAPAKSE, S.; NILMALGODA, S.D.; MOLNAR, M.; BALLARD, R.E.; AUSTIN, D.F.; BOHAC, J.R. Phylogenetic relationships of the sweet potato in *Ipomoea* series *Batatas* (Convolvulaceae) based on nuclear beta-amylase gene sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, San Diego, v. 30, n. 3, p. 623–632, 2004.

RAVI, V.; NASKAR, S.K.; MAKESHKUMAR, T.; BABU, B.; KRISHNAN, B.S.P. Molecular physiology of storage root formation and development in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). **Journal of Root Crops**, Thiruvananthapuram, v. 35, n. 1, p. 1–27, 2009.

RENEWABLE FUELS ASSOCIATION. Disponível em:
<<http://www.ethanolrfa.org/resources/industry/statistics/#1454098996479-8715d404-e546>> .
Acesso em: 19 maio 2016.

RITSCHER, P.S.; HUAMÁN, Z. Variabilidade morfológica da coleção de germoplasma de

batata-doce da Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 4, p. 485–492, 2002.

ROHLF, F.J.; MARCUS, L.F.A revolution in morphometrics. **Trends in Ecology & Evolution**, Cambridge, v. 8, n. 4, p. 129–132, 1993.

ROULLIER, C.; KAMBOUO, R.; PAOFA, J.; MCKEY, D.; LEBOT, V. On the origin of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) genetic diversity in New Guinea, a secondary centre of diversity. **Heredity**, Edinburgh, v. 110, n. 6, p. 594–604, 2013a.

ROULLIER, C.; ROSSEL, G.; TAY, D.; MCKEY, D.; LEBOT, V. Combining chloroplast and nuclear microsatellites to investigate origin and dispersal of New World sweet potato landraces. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 20, n. 19, p. 3963–3977, 2011.

ROULLIER, C.; DUPUTIÉ, A.; WENNEKES, P.; BENOIT, L.; FERNÁNDEZ BRINGAS, V.M.; ROSSEL, G.; TAY, D.; MCKEY, D.; LEBOT, V. Disentangling the origins of cultivated sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). **PloS one**, San Francisco, v. 8, n. 5, p. e62707, 2013b.

ROYER, D.L.; WILF, P.; JANESKO, D.A.; KOWALSKI, E.A.; DILCHER, D.L. Correlations of climate and plant ecology to leaf size and shape: potential proxies for the fossil record. **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 92, n. 7, p. 1141–1151, 2005.

SANTA-MARIA, M.C.; YENCHO, C.G.; HAIGLER, C.H.; THOMPSON, W.F.; KELLY, R.M.; SOSINSKI, B. Starch self-processing in transgenic sweet potato roots expressing a hyperthermophilic α -amylase. **Biotechnology Progress**, New York, v. 27, p. 351–359, 2011.

SCHMERLER, S.B.; CLEMENT, W.L.; BEAULIEU, J.M.; CHATELET, D.S.; SACK, L.; DONOGHUE, M.J.; EDWARDS, E.J. Evolution of leaf form correlates with tropical-temperate transitions in *Viburnum* (Adoxaceae). **Proceedings of the Royal Society of London. Series B - Biological Sciences**, London, v. 279, p. 3905–3913, July 2012.

SHIGECHI, H.; FUJITA, Y.; KOH, J.; UEDA, M.; FUKUDA, H.; KONDO, A. Energy-saving direct ethanol production from low-temperature-cooked corn starch using a cell-surface engineered yeast strain co-displaying glucoamylase and α -amylase. **Biochemical Engineering Journal**, Amsterdam, v. 18, n. 2, p. 149–153, 2004.

SILVEIRA, L.C.I. da; BRASILEIRO, B.P.; KIST, V.; WEBER, H.; DAROS, E.; PETERNELLI, L.A.; BARBOSA, M.H.P. Selection strategy in families of energy cane based on biomass production and quality traits. **Euphytica**, Amsterdam, v. 204, n. 2, p. 443–455, 2015.

SILVEIRA, M.A. **Batata-doce: uma nova alternativa para produção de etanol**. Brasília: IEL; NC, 2008. 163 p. (Álcool combustível/Série Indústria em Perspectiva, 1).

SOARES, M.L.C.; MAYO, S.J.; GRIBEL, R.; KIRKUP, D. Elliptic fourier analysis of leaf outlines in five species of *Heteropsis* (Araceae) from the Reserva Florestal Adolpho Ducke, Manaus, Amazonas, Brazil. **Kew Bulletin**, Richmond, v. 66, p. 463–470, Aug. 2011.

SOLANKEY, S.S.; SINGH, P.K.; SINGH, R.K. Genetic diversity and interrelationship of

qualitative and quantitative traits in sweet potato. **International Journal of Vegetable Science**, v. 21, n. 3, p. 236–248, 2015.

SRICHUWONG, S.; ORIKASA, T.; MATSUKI, J.; SHIINA, T.; KOBAYASHI, T.; TOKUYASU, K. Sweet potato having a low-temperature-gelatinizing starch as a promising feedstock for bioethanol production. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 39, p. 120–127, 2012.

SRISUWAN, S.; SIHACHAKR, D.; SILJAK-YAKOVLEV, S. The origin and evolution of sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.) and its wild relatives through the cytogenetic approaches. **Plant Science**, Shannon, v. 171, n. 3, p. 424–433, 2006.

TEINBAUER, C.E. KUSHMAN, L.J. **Sweet potato culture and diseases**. Washington: USDA, 1971. 74 p. (Agriculture Handbook, 388).

SUDA, I.; NISHIGOSHI, K.; OKI, T.; MASUDA, M.; KOBAYASHI, M.; NISHIBA, Y.; FURUTA, S. Physiological functionality of purple-fleshed sweet potatoes containing anthocyanins and their utilization in foods. **Japan Agricultural Research Quarterly**, Tsukuba, v. 37, n. 3, p. 167–173, 2003.

SUEUR, J.; JANIQUE, S.; SIMONIS, C.; WINDMILL, J. F. C.; BAYLAC, M. Cicada ear geometry: species and sex effects. **Biological Journal of the Linnean Society**, London, v. 101, p. 922–934, 2010.

TABORDA, L.W.; MARIA, S.; LOVATO, A.; MARIA, S. Evaluation of the technical and economic feasibility of ethanol production in a pilot plant using sweet potatoes. **Custos e Agronegócio**, Recife, v. 96, p. 245–262, 2015.

TAIRO, F.; MNENEY, E.; KULLAYA, A. Morphological and agronomical characterization of sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] germplasm collection from Tanzania. **African Journal of Plant Science**, Cameroon, v. 2, n. 8, p. 77–85, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. São Paulo: Artmed, 2013. 820 p.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch—composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, London, v. 39, n. 2, p. 151–165, 2004.

THIYAGU, D.; RAFII, M.Y.; MAHAMUD, T.M.M.; RATIF, M.A.; MALEF, M.A. SENTOOR, G. Genetic variability of sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.) genotypes selected for vegetable use. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, Helsinki, v. 11, n. 2, p. 340–343, 2013.

UGENT, D.; PETERSON, L.W. Archaeological remains of potato and sweet potato in Peru. **Circular International Potato Center**, Lima, v. 16, n. 4, p. 1–10, 1988.

VEASEY, E.A.; SILVA, J.R.Q.; ROSA, M.S.; BORGES, A.; BRESSAN, E.A.; PERONI, N. Phenology and morphological diversity of sweet potato (*Ipomoea batatas*) landraces of the Vale do Ribeira. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 64, n. 4, p. 416–427, 2007.

VIEIRA, M.; MAYO, S.J.; DE ANDRADE, I.M. Geometric morphometrics of leaves of

Anacardium microcarpum Ducke and *A. occidentale* L. (Anacardiaceae) from the coastal region of Piauí, Brazil. **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 315–327, 2014.

VISCOSI, V.; LOY, A.; FORTINI, P. Geometric morphometric analysis as a tool to explore covariation between shape and other quantitative leaf traits in European white oaks. In: NIMIS, P.L.; VIGNES LEBBE, R. (Ed.). **Tools for identifying biodiversity: progress and problems**. Trieste: EUT Edizione Università di Trieste, 2010. p. 257–261.

VISCOSI, V.; FORTINI, P.; SLICE, D.E.; LOY, A.; BLASI, C. Geometric morphometric analyses of leaf variation in four oak species of the subgenus *Quercus* (Fagaceae). **Plant Biosystems: An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, Rome, v. 143, n. 3, p. 575–587, 2009.

WANG, M.; SHI, Y.; XIA, X.; LI, D.; CHEN, Q. Life-cycle energy efficiency and environmental impacts of bioethanol production from sweet potato. **Bioresource Technology**, New York, v. 133, p. 285–292, 2013.

WANG, S.; LI, C.; COPELAND, L.; NIU, Q.; WANG, S. Starch retrogradation: a comprehensive review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Tahoe, v. 14, n. 5, p. 568–585, 2015.

WHITE, S.; FEINER, S.; KOPYLEC, J. Virtual vouchers: Prototyping a mobile augmented reality user interface for botanical species identification. In: IEEE VIRTUAL REALITY, 6., 2006, Alexandria. **Proceedings...** Alexandria: IEEE Xplore, 2006, p. 119–127.

WOOLFE, J.A. **Sweet potato: an untapped food resource**. New York: Cambridge University Press, 2008. 643 p.

YADA, B.; TUKAMUHABWA, P.; ALAJO, A.; MWANGA, R.O.M. Morphological characterization of Ugandan sweet potato germplasm. **Crop Science**, Madison, v. 50, n. 6, p. 2364, 2010.

YOSHIMOTO, M.; OKUNO, S.; YOSHINAGA, M.; YAMAKAWA, O.; YAMAGUCHI, M.; YAMADA, J. Antimutagenicity of sweet potato (*Ipomoea batatas*) Roots. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Tokyo, v. 63, n. 3, p. 537–541, 1999.

ZELDITCH, M.L.; SWIDERSKI, D.L.; SHEETS, H.D.; FINK, W.L. **Geometric morphometrics for biologists: a primer**. San Diego: Elsevier, 2004. 443 p.

ZHANG, D.; CERVANTES, J.; HUAMÁN, Z.; CAREY, E.; GHISLAIN, M. Assessing genetic diversity of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) cultivars from tropical America using AFLP. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 47, n. 6, p. 659–665, 2000.

ZHANG, K.; FENG, H. Fermentation potentials of *Zymomonas mobilis* and its application in ethanol production from low-cost raw sweet potato. **Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 9, n. 37, p. 6122–6128, 2010.

ZHANG, L.; ZHAO, H.; GAN, M.; JIN, Y.; GAO, X.; CHEN, Q.; GUAN, J.; WANG, Z.

Application of simultaneous saccharification and fermentation (SSF) from viscosity reducing of raw sweet potato for bioethanol production at laboratory, pilot and industrial scales.

Bioresource Technology, New York, v. 102, n. 6, p. 4573–4579, 2011.

ZHANG, P.; CHEN, C.; SHEN, Y.; DING, T.; MA, D.; HUA, Z.; SUN, D. Starch saccharification and fermentation of uncooked sweet potato roots for fuel ethanol production.

Bioresource Technology, New York, v. 128, p. 835–838, 2013.

ZISKA, L.H.; RUNION, G.B.; TOMECEK, M.; PRIOR, S.A.; TORBET, H.A.; SICHER, R. An evaluation of cassava, sweet potato and field corn as potential carbohydrate sources for bioethanol production in Alabama and Maryland. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 33, n. 11, p. 1503–1508, 2009.

2 DIVERSIDADE MORFOAGRONÔMICA EM ACESSOS DE BATATA-DOCE [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] NO LITORAL NORTE E DO VALE DO RIBEIRA, SÃO PAULO

Resumo

A batata-doce tem sido cultivada e conservada em diversos sistemas agroecológicos no Brasil, incluindo o litoral da região Sudeste, que é bem conhecida por manter diversas variedades agrícolas em suas roças e quintais. Entretanto, nos últimos anos, estas regiões vêm sofrendo inúmeras modificações socioculturais que podem estar contribuindo para a erosão genética nestas culturas. Um total de 80 acessos de batata-doce, sendo 45 do litoral do Vale do Ribeira, 26 do litoral norte e os demais de um antigo banco de germoplasma e de um agricultor de Piracicaba foram utilizadas para avaliar a diversidade genética por meio de 23 descritores morfológicos e 10 agrônômicos. Os métodos de ligação média entre grupos (UPGMA), Tocher, análise de componentes principais (ACP) e análise discriminante por componentes principais (ADCP) foram utilizados para a formação dos grupos. A caracterização agrônômica revelou que a produtividade foi o caráter que mais contribuiu para a formação dos grupos, além disso, as análises dos gráficos de dispersão e de grupos foram concordantes no agrupamento dos acessos. A avaliação dos caracteres qualitativos demonstrou que 70% dos fenótipos estavam presentes, sendo a maior parte da variabilidade encontrada no formato das folhas e na coloração das raízes tuberosas. A transformação dos descritores morfológicos em dados binários mostrou a inexistência de estruturação espacial, sendo a formação de grupos atribuída a elevada diversidade morfológica (83%) encontrada nos acessos. O agrupamento formado pela ADCP não foi muito consistente com as informações obtidas pelo método UPGMA. A maior parte da variabilidade foi encontrada entre os acessos (97%) e apenas 4,1% entre as cidades dentro das regiões. A apreciável diversidade genética encontrada nos acessos de batata-doce, demonstrada por estes resultados, destaca a importância da conservação *on-farm* ainda realizada pelos agricultores tradicionais destas regiões.

Palavras-chave: Agricultura tradicional; Caracterização de germoplasma; Conservação *on-farm*; Métodos multivariados; Morfologia

Abstract

Sweet potato has been grown and stored in different agroecological systems in Brazil, including those of the coast of the Southeast region, which are well known for keeping various agricultural varieties in gardens and yards. However, in recent years, these regions have suffered numerous sociocultural changes that may be contributing to genetic erosion in these cultures. Eighty sweet potato accessions, being 45 of the Ribeira Valley, 26 of North coast and the remaining nine from an older germplasm bank and from a farmer in Piracicaba were used to evaluate the genetic diversity as to 23 morphological and 10 agronomic descriptors. UPGMA, Tocher, principal component analysis (PCA) and discriminant analysis of principal components (DAPC) methods were used for the formation of groups. The agronomic characterization revealed that productivity was the character that most contributed to the formation of groups; in addition, the analysis of scatter plots and groups agreed on the grouping of accessions. The qualitative assessment of characters showed that 70% of the phenotypes were present and most of the variability was found in leaf shape and color of storage roots. The transformation of morphological descriptors in binary data showed no

spatial structure, the formation of groups being attributed to the high morphological diversity (83%) found among the accessions. The grouping formed by the DAPC was not very consistent with the information obtained by the UPGMA method. Most of the variability was found among the accessions (97%) and only 4.1% among the cities within the regions. The considerable genetic diversity found in sweet potato accessions, as demonstrated by these results, stresses the importance of on-farm conservation still held by traditional farmers in these regions.

Keywords: Germplasm characterization; Multivariate methods; Morphology; On-farm conservation; Traditional agriculture

2.1 Introdução

A batata-doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] é a sétima mais importante cultura alimentar em todo o mundo (FAO, 2013) e a sexta hortaliça mais cultivada no Brasil, sendo o Estado de São Paulo o segundo maior produtor do país (PAM, 2014). Em virtude de seu baixo custo de produção, a batata-doce é cultivada principalmente por pequenos agricultores e apresenta uma enorme relevância econômica e aceitação no mercado (CARMONA et al., 2015).

Embora o centro de origem da batata-doce esteja localizado no continente americano (ZHANG et al., 1998), a sua exata localização e o período de sua domesticação ainda permanecem desconhecidos (ROULLIER et al., 2013b).

Por ser uma espécie alógama e possuir alta ploidia ($2n=6x=90$), a batata-doce apresenta elevado nível de diversidade genética (LEBOT, 2009). Além disso, a ação antrópica também contribui para este cenário, à medida que, por meio dela, são selecionadas diferentes variedades, que são mantidas em quintais e roças (VEASEY et al., 2008). Estes altos índices de diversidade genética poderão permitir vários cruzamentos entre diferentes genótipos, a fim de obter novas cultivares por meio do melhoramento genético (AZEVEDO et al., 2015), com ainda mais variação.

A agricultura familiar é a principal responsável por assegurar tanto a conservação de variedades de batata-doce como o conhecimento tradicional associado a esta cultura (MOULIM et al. 2012). No entanto, nos últimos anos, mudanças nos hábitos de consumo (ANDRADE JUNIOR et al., 2009; NEIVA et al., 2011) e a impossibilidade de plantio nas áreas de proteção ambiental, têm contribuído com a perda de genótipos importantes. Desta maneira, urge verificar as causas para o abandono desta cultura, bem como elaborar as estratégias para a conservação da diversidade.

Para culturas de raízes em geral, a dificuldade na manutenção em coleções de campo *ex situ*, devida aos recursos limitados e às elevadas chances de perder ou misturar variedades pode colocar em risco a conservação dos acessos (TAYLOR et al., 2010). A adoção de estratégias de conservação *on farm* pode ser útil para preservar as tradições culturais, atenuar os efeitos de pragas e doenças e outros estresses ambientais (JARVIS et al., 2000), mas não visa substituir as coleções *ex situ*, apenas ajudar a reduzir o seu tamanho (CAMUS; LEBOT, 2010).

Cultivares de batata-doce são geralmente distinguidas com base em caracteres morfológicos, em virtude da enorme variabilidade em folhas, ramas, raízes tuberosas e flores (HUAMAN, 1991; KARURI et al., 2010). Estudos com a caracterização morfológica nesta cultura têm sido utilizados para avaliar o nível de diversidade genética (DAROS et al., 2002; RITSCHER; HUAMÁN, 2002; VEASEY et al., 2007; YADA et al., 2010b; MOULIN et al., 2012; AZEVEDO et al., 2015b), a identificação de duplicatas (HUAMAN; AGUILAR; ORTIZ, 1999) e as correlações com características de importância agrônômica (AZEVEDO et al., 2015a; CARMONA et al., 2015).

O conhecimento da natureza e magnitude da variação dos caracteres morfoagronômicos entre os acessos é imprescindível no planejamento de um programa de melhoramento genético (TSEGAYE; DECHASSA; SASTRY, 2007). Além disso, este tipo de caracterização poderá auxiliar na eliminação de acessos duplicados, assim reduzindo os custos com a conservação (YADA et al., 2010b).

Neste contexto, objetivou-se a caracterização da diversidade genética de acessos de batata-doce coletados na região do litoral Norte e do Vale do Ribeira (Sul), no Estado de São Paulo, com base em marcadores morfoagronômicos.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Material vegetal

As 80 variedades de batata-doce (Tabela 2.1) avaliadas neste estudo são oriundas da coleção de trabalho do Laboratório de Evolução, Departamento de Genética, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (Universidade de São Paulo) – Esalq/USP, em Piracicaba-SP. A maior parte das variedades escolhidas são provenientes dos litorais Norte e do Vale do Vale do Ribeira, no Estado de São Paulo (Figura 2.1), e as demais vêm de uma

coleção mais antiga da Esalq/USP e da propriedade de um agricultor na região de Piracicaba-SP.

2.2.2 Instalação e condução do experimento

Previamente à instalação do experimento, as 80 variedades foram plantadas no campo a fim de que se pudessem coletar as estacas vegetativas (ramas) a serem utilizadas nesta avaliação (Figura 2.2a). No total, foram extraídas cerca de 4.000 ramas com aproximadamente 25 centímetros (Figura 2.2b), que foram utilizadas neste experimento.

Tabela 2.1 – Relação dos 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP avaliados, com as respectivas informações do município, comunidade, local de coleta (quintais) e cores da casca e da polpa das raízes tuberosas. Piracicaba-SP, 2013-2014 (continua)

Acessos	Município	Comunidade	Local de coleta	Cor da casca	Cor da polpa
IG_1	Iguape	Icapara	Q1	Roxa	Roxa
IG_2	Iguape	Icapara	Q1	Creme	Creme
IG_3	Iguape	Pontal do Icapara	Q2	Roxa	Roxa
IG_4	Iguape	Pontal do Icapara	Q3	Branca	Branca
IG_5	Iguape	Pontal do Icapara	Q3	Creme	Creme
IG_6	Iguape	Bussununga	Q4	Creme	Creme
IG_7	Iguape	Centro	Feira	Rosa	Creme
IG_8	Iguape	Momuna	Q5	Branca	Branca
IG_9	Iguape	Momuna	Q5	Salmão	Creme
IG_10	Iguape	Momuna	Q6	Branca	Branca
IG_11	Iguape	Momuna	Q6	Branca	Branca
IG_12	Iguape	Momuna	Q6	Branca	Branca
IG_13	Iguape	Momuna	Q6	Amarela	Amarela
IG_14	Iguape	Pedrões	Q7	Salmão	Creme
IG_15	Iguape	Pedrões	Q8	Salmão	Creme
IG_16	Iguape	Pedrões	Q9	Rosa escuro	Creme
IG_17	Iguape	Pedrões	Q9	Salmão	Creme
IG_18	Iguape	Pedrões	Q9	Rosa escuro	Creme
IG_19	Iguape	Pedrões	Q9	Salmão	Creme
IG_20	Iguape	Pedrões	Q9	Salmão	Creme
IG_21	Iguape	Cavalcanti	Q10	Rosa claro	Creme
IG_22	Iguape	Centro	Q11	Rosa escuro	Creme
IG_23	Iguape	Centro	Q11	Salmão	Creme
IG_24	Iguape	Centro	Q11	Rosa escuro	Creme
IG_25	Iguape	C.do Engenho	Q12	Rosa claro	Amarela
IC_26	Ilha Comprida	Pedrinhas	Q13	Amarela	Amarela
IC_27	Ilha Comprida	Pedrinhas	Q13	Amarela	Amarela
IC_28	Ilha Comprida	Pedrinhas	Q14	Rosa claro	Creme
IC_29	Ilha Comprida	Pedrinhas	Q14	Rosa escuro	Creme
IC_30	Ilha Comprida	Pedrinhas	Q14	Creme	Creme
IC_31	Ilha Comprida	Pedrinhas	Q14	Branca	Branca
IC_32	Ilha Comprida	Pedrinhas	Q14	Salmão	Creme
CA_33	Cananéia	Santa Maria	Q15	Rosa	Creme

CA_34	Cananéia	Santa Maria	Q16	Roxa	Roxa
CA_35	Cananéia	Santa Maria	Q16	Roxa	Roxa
CA_36	Cananéia	Santa Maria	Q17	Roxa	Roxa

Tabela 2.1 – Relação dos 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP avaliados, com as respectivas informações do município, comunidade, local de coleta (quintais) e cores da casca e da polpa das raízes tuberosas. Piracicaba-SP, 2013-2014

					(conclusão)
Acessos	Município	Comunidade	Local de coleta	Cor da casca	Cor da polpa
CA_37	Cananéia	Santa Maria	Q18	Branca	Branca
CA_38	Cananéia	Santa Maria	Q18	Rosa escuro	Creme
CA_39	Cananéia	Porto do Meio	Q19	Amarela	Branco
CA_40	Cananéia	Porto do Meio	Q19	Amarela	Creme
CA_41	Cananéia	Rio Branco	Q20	Amarela	Creme
CA_42	Cananéia	Rio Branco	Q20	Creme	Creme
CA_43	Cananéia	Rio Branco	Q20	Amarela	Creme
CA_44	Cananéia	Rio Branco	Q20	Rosa escuro	Creme
CA_45	Cananéia	Rio Branco	Q20	Roxa	Creme
BG_46	BAG antigo	S/identificação	-	Amarela	Amarela
BG_47	BAG antigo	S/identificação	-	Rosa escuro	Creme
BG_48	BAG antigo	S/identificação	-	Amarela	Amarela
BG_49	BAG antigo	S/identificação	-	Amarela	Amarela
BG_50	BAG antigo	S/identificação	-	Amarela	Amarela
UB_51	Ubatuba	Mato Dentro	Q21	Branca	Branca
UB_52	Ubatuba	Mato Dentro	Q21	Roxa	Creme
UB_53	Ubatuba	Mato Dentro	Q22	Rosa escuro	Creme
UB_54	Ubatuba	Mato Dentro	Q22	Rosa	Creme
UB_55	Ubatuba	Rio escuro	Q23	Creme	Creme
UB_56	Ubatuba	Rio escuro	Q24	Branca	Branca
UB_57	Ubatuba	Taquaral	Q25	Rosa escuro	Creme
UB_58	Ubatuba	Taquaral	Q26	Rosa	Creme
UB_59	Ubatuba	Taquaral	Q26	Creme	Branca
UB_60	Ubatuba	Taquaral	Q26	Creme	Creme
UB_61	Ubatuba	Ald. Boa Vista	Q27	Roxa	Creme
UB_62	Ubatuba	Ald. Boa Vista	Q27	Rosa escuro	Creme
UB_63	Ubatuba	Ald. Boa Vista	Q28	Roxa	Roxa
UB_64	Ubatuba	Ald. Boa Vista	Q28	Rosa escuro	Creme
UB_65	Ubatuba	Ald. Boa Vista	Q28	Amarela	Creme
UB_66	Ubatuba	S. Ubatumirim	Q29	Rosa escuro	Creme
UB_67	Ubatuba	S. Ubatumirim	Q29	Rosa	Creme
UB_68	Ubatuba	S. Ubatumirim	Q30	Amarela	Amarela
UB_69	Ubatuba	Quil. Camburí	Q31	Rosa escuro	Creme
UB_70	Ubatuba	Araribá	Q32	Creme	Creme
CG_71	Caraguatatuba	Getuba	Estrada	Creme	Branca
CG_72	Caraguatatuba	Getuba	Q33	Creme	Branca
CG_73	Caraguatatuba	Getuba	Estrada	Rosa escuro	Creme
CG_74	Caraguatatuba	Costa Branca	Estrada	Creme	Creme
UB_75	Ubatuba	Centro	Feira	Branca	Branca

UB_76	Ubatuba	Centro	Feira	Amarela	Amarela
PI_77	Piracicaba	Jiboia		Rosa escuro	Creme
PI_78	Piracicaba	Jiboia		Roxa	Roxa
PI_79	Piracicaba	Jiboia		Creme	Creme
BG_80	BAG antigo	S/identificação		Creme	Branca

O experimento foi instalado no Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Esalq/USP, em Piracicaba, São Paulo, com coordenadas geográficas 22° 43’ 31” S e 47° 38’ 57” O e aproximadamente 550 metros de altitude. Para a avaliação do experimento, as mudas foram plantadas em leiras com 1,0 m de largura, distanciadas entre si por 2,0 m. Na Figura 2.2, podemos observar a condução do experimento desde o plantio, realizado em agosto de 2013, até a colheita, em fevereiro de 2014.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados (DBC) com três repetições. A parcela experimental foi composta de 15 plantas, espaçadas em 30 centímetros, totalizando uma área de 13,75 m². Após o plantio, realizou-se a irrigação até os dois primeiros meses (Figura 2.2d). O replantio das falhas do experimento foi realizado após 15 dias da data do plantio. Os tratos culturais, adubação e o controle de pragas e doenças seguiram as recomendações de Filgueira (2008) para a cultura da batata-doce.

Figura 2.2 – Imagens do preparo da área, plantio e colheita do experimento de batata-doce realizado em campo no Departamento de Genética da Esalq/USP. (a) Coleção de trabalho mantida em campo para produção de mudas; (b) Tamanho médio das mudas utilizadas no plantio; (c) Preparo da área; (d) Disposição do sistema de irrigação; (e) Plantio de mudas e (f) Colheita do experimento, 6 meses após o plantio

2.2.3 Avaliações experimentais

2.2.3.1 Caracterização morfológica

Os descritores mínimos utilizados para esta caracterização morfológica foram selecionados a partir de um trabalho desenvolvido por Huaman (1991). Estes descritores

morfológicos podem ser separados em três grupos: ramas, folhas e raízes tuberosas (Tabela 2.2). As características para os dois primeiros grupos foram observadas três meses após o plantio, enquanto que as avaliações para as raízes tuberosas foram no instante da colheita, ou seja, seis meses após o plantio.

Tabela 2.2 – Descritores morfológicos utilizados para a avaliação dos acessos de batata-doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam] presentes na coleção de trabalho – Esalq/USP, Piracicaba –SP

(continua)

Grupo	Características	Nota/ Fenótipo
Ramas	Comprimento das ramas principais	3 = ereta (< 75 cm); 5= semiereta (75-150 cm); 7= rasteira (151-250 cm); 9= extremamente rasteira (> 250 cm)
	Comprimento do entrenó	1= muito curto (< 3 cm); 3= curto (3-5 cm); 5= intermediário (6-9 cm); 7= longo (10-12 cm); 9= muito longo (> 12 cm)
	Diâmetro do entrenó	1= muito fino (< 4 mm); 3= fino (4-6 mm); 5= intermediário (7-9 mm); 7= grosso (10-12 mm); 9= muito grosso (> 12 mm)
	Cor predominante da rama	1= verde; 3= verde com poucas manchas roxas; 4= verde com muitas manchas roxas; 5= verde com muitas manchas roxas escuras; 6= predominantemente roxa; 7= predominantemente roxa escura; 8= totalmente roxa 9= totalmente roxa escura
	Cor secundária da rama	0= ausente; 1= base verde; 2= ponta verde; 3= nós verdes; 4= base roxa; 5= ponta roxa; 6= nós roxos; 7= outros (especificar)
	Tipo de pubescência da rama	0= ausente; 3= esparsa; 5= moderada; 7 = densa; 9= muito densa
Folhas	Forma geral da folha	1= arredondada; 2= reniforme; 3= cordada; 4= triangular; 5= hastada; 6= lobada; 7= quase dividida
	Tipo de lóbulos da folha	0= sem lóbulos laterais (inteira); 1= muito superficiais; 3= superficiais; 5= moderados; 7 = profundos; 9= muito profundos.
	Número de lóbulos da folha	1= um; 3= três; 5= cinco; 7= sete; 9= muitos
	Forma do lóbulo central	0= ausente; 1= dentado; 2= triangular; 3= semicircular; 4= semielíptico; 5= elíptico; 6= lanceolado; 7= oblanceolado; 8= linear (grosso); 9= linear (fino)
	Tamanho da folha madura	3 = pequena (< 8 cm); 5= média (8-15 cm); 7= grande (16-25 cm); 9= muito grande (> 25 cm)
	Pigmentação das nervuras	1= amarelas; 2= verdes; 3= manchas roxas na base da nervura principal; 4= manchas roxas em várias nervuras; 5= nervura principal parcialmente roxa; 6= nervura principal predominante ou parcialmente roxa; 7= todas as nervuras parcialmente roxas; 8= todas as nervuras predominante ou parcialmente roxas; 9= superfície adaxial e nervuras totalmente roxas;
	Cor da folha madura	1= verde-amarelada; 2= verde; 3= verde com extremidade roxa; 4= verde-acinzentado; 5= verde com nervuras roxas na superfície abaxial; 6= fracamente roxa; 7= predominantemente roxa; 8= verde na parte abaxial e roxa na parte adaxial; 9= roxas em ambas as superfícies;

Tabela 2.2 – Descritores morfológicos utilizados para a avaliação dos acessos de batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) presentes na coleção de trabalho – Esalq/USP, Piracicaba –SP

		(conclusão)
Folhas	Cor da folha imatura	1= verde-amarelada; 2= verde; 3= verde com extremidade roxa; 4= verde-acinzentado; 5= verde com nervuras roxas na superfície abaxial; 6= fracamente roxa; 7= predominantemente roxa; 8= verde na parte abaxial e roxa na parte adaxial; 9= roxas em ambas as superfícies;
	Comprimento do pecíolo	1= muito curto (< 10 cm); 3= curto (10-20 cm); 5= intermediário (21-30 cm); 7= longo (31-40 cm); 9= muito longo (> 40 cm)
	Pigmentação do pecíolo	1= verde; 2= verde com roxo próximo à rama; 3= verde com roxo próximo à folha; 4= verde com roxo nas duas extremidades; 5= verde com manchas roxas; 6= verde com faixas roxas; 7= roxo com verde próximo à folha; 8= alguns pecíolos roxos e outros verdes; 9= predominante ou totalmente roxa;
Raízes tuberosas	Forma das raízes	1= redonda; 2= redonda elíptica; 3= elíptica; 4= ovada; 5= obovada; 6= oblonga; 7= longa oblonga; 8= longa elíptica; 9= longa irregular ou curvada
	Defeitos da superfície da raiz	0= ausente; 1= película tipo jacaré; 2= veias; 3= constrições horizontais rasas; 4= constrições horizontais profundas; 5= fendas longitudinais rasas; 6= fendas longitudinais profundas; 7= constrições e fendas profundas; 8= outros (especificar)
	Cor predominante da película	1= branca; 2= creme; 3= amarela; 4= laranja; 5= marrom-alaranjada; 6= rosa; 7= vermelha; 8= roxo-avermelhada; 9= roxa escura.
	Intensidade da cor predominante	1= pálida; 2= intermediária; 3= escura
	Cor predominante da polpa	1= branca; 2= creme; 3= creme escura; 4= amarelo pálido; 5= amarelo escuro; 6= laranja pálido; 7= laranja intermediária; 8= laranja escura; 9= fortemente pigmentado com antocianinas
	Cor secundária da polpa	0= ausente; 1= branca; 2= creme; 3= amarela; 4= laranja; 5= rosa; 6= vermelha; 7= roxo-avermelhada; 8= roxa; 9= roxa escura
	Distribuição da cor secundária da polpa	0= ausente; 1= anel estreito no córtex; 2= anel largo no córtex; 3= pontos espalhados na polpa; 4= anel fino na polpa; 5= anel largo na polpa; 6= anel e outras manchas na polpa; 7= em secções longitudinais; 8= cobrindo a maior parte da polpa; 9 = cobrindo toda a polpa

2.2.3.2 Caracterização agronômica e outras quantitativas

Como características agronômicas, foram avaliadas a produtividade ($\text{ton} \cdot \text{ha}^{-1}$), a massa média (kg), o número médio das raízes tuberosas, comprimento da raiz tuberosa (cm), diâmetro da raiz tuberosa (cm), razão comprimento/diâmetro da raiz tuberosa (RCD). A avaliação da produtividade (PROD) foi realizada com base na quantidade de quilogramas de raízes colhidas na parcela, em seguida, transformados em toneladas por hectare. Para a mensuração das outras variáveis foram coletadas duas plantas individuais em cada parcela. A massa média das raízes tuberosas (MMT) foi obtida pela divisão do número de raízes pela massa total. E o número médio de raízes (NMT) foi encontrado pela média aritmética da quantidade de raízes tuberosas das duas plantas coletadas na parcela. O diâmetro da raiz

tuberosa (DT) e o comprimento da raiz da tuberosa (CT) foram obtidos pela média das raízes coletadas nas duas plantas centrais de cada parcela.

Outras características quantitativas foram avaliadas, tais como o tamanho da folha madura (TFM), o comprimento do pecíolo (CP), o diâmetro do entrenó (DE) e o comprimento do entrenó (CE). Para os caracteres TFM, CP e DE foram escolhidas quatro folhas aleatoriamente em cada parcela e registrados os comprimentos (cm) e diâmetro de cada uma das folhas, em seguida, calculou-se a média aritmética.

2.2.4 Análises estatísticas

Para a avaliação inicial dos dados foram realizadas análises estatísticas descritivas das frequências de notas/fenótipos para todos os caracteres morfológicos. Em seguida, as notas foram convertidas em dados binários (presença=1 e ausência=0), para cada classe fenotípica avaliada dentro de cada descritor. Com os dados binários foi obtida uma matriz do coeficiente do complemento aritmético de Jaccard. Em seguida, realizou-se uma análise de agrupamento pelo método hierárquico aglomerativo UPGMA, utilizando o pacote *vegan* (PETER et al., 2015) do programa *R* (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016).

Além disso, os dados binários foram submetidos a uma análise de variância molecular (AMOVA) para averiguar a partição da variabilidade entre as regiões, entre os acessos dentro de cada região e entre os acessos, com o auxílio do pacote *ade4* (DRAY et al., 2016) do programa *R* (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016). Nesta avaliação, levou-se em consideração para composição de regiões a formação de três grupos, um deles com acessos pertencentes ao litoral do Vale do Ribeira, o outro com acessos do litoral Norte e os demais acessos em um terceiro grupo. Para a composição de “cidades”, além das seis onde foram coletados os acessos, levou-se em consideração o “BAG antigo” também como uma cidade.

Utilizando-se o pacote estatístico *adegenet* (JOMBART, 2008) do programa *R* (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016) foi realizada uma análise discriminante dos componentes principais (ADCP). A ADCP é um método multivariado delineado para identificar e descrever grupos de indivíduos geneticamente aparentados, bem como para quaisquer dados quantitativos (JOMBART; DELLIVARD, S.; BALLOUX, S., 2010). Além disso, a variabilidade genética entre os acessos foi estimada por meio da distância euclidiana entre todos os pares de indivíduos.

Os dados referentes aos caracteres agrônômicos foram submetidos à análise de variância com auxílio de comandos básicos implementados no pacote computacional *R* (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016), levando em consideração o modelo estatístico para

blocos casualizados (DBC). Para a comparação de médias foi realizado o teste de Scott-Knott (SCOTT; KNOTT, 1974) com auxílio do pacote *ScottKnott* (JELIHOVSCHI; FARIA; ALLAMAN, 2014). Para o cálculo das distâncias, utilizou-se a distância generalizada de Mahalanobis, em seguida, realizou-se o agrupamento pelo método UPGMA com auxílio do programa R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016).

Utilizou-se o método de agrupamento de Tocher (RAO, 1952), com a distância generalizada de Mahalanobis (D2), como medida de dissimilaridade. Estas análises foram realizadas com o auxílio do pacote *biotools* (SILVA, 2016) do programa computacional R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016).

2.3 Resultados e Discussão

2.3.1 Diversidade baseada em caracteres morfoagronômicos

A análise de variância foi realizada apenas para os caracteres DE, PROD, CT, RCD, NMR, MMR, avaliados nos 80 acessos, em três repetições no campo. Os caracteres, TFM, CP, CE e DT não apresentaram normalidade nos resíduos e homogeneidades das variâncias mesmo após etapas de transformação dos dados. Em todos os caracteres avaliados verificou-se uma variação altamente significativa pelo teste F ($P < 0.01$), indicando a presença de variabilidade genética entre os acessos estudados (Tabela 2.3).

Os coeficientes de variação (CV's) oscilaram de 7,79%, para o diâmetro do entrenó, a 37,66%, em massa média das raízes tuberosas (Tabela 2.3). A maioria dos caracteres relacionados às raízes tuberosas apresentam os mais elevados coeficientes de variação, provavelmente em virtude do processo de colheita que muitas vezes não é tão eficiente em capturar todas as raízes no solo e é, portanto, altamente influenciados pelo ambiente. Em estudos com batata-doce, Andrade Junior et al. (2009), Azevedo et al. (2015a) e Silva; Ponijaleki; Suinaga (2012) encontraram CV's que variaram de 18,37% a 54,37%, avaliando caracteres fenotípicos de raízes tuberosas.

Tabela 2.3 – Estimativas de quadrados médios, médias e coeficientes de variação (CV) obtidos na análise de variância dos caracteres avaliados em acessos de batata-doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] da coleção de trabalho do Departamento de Genética da Esalq/USP, Piracicaba-SP, 2013.

Fonte de Variação	GL	Quadrados Médios					
		DE(mm)	PROD	CT(mm)	RCD	NMT	MMT(kg)
Blocos	2	1,145	161,8	2259	0,845	1,163	0,395
Acessos	79	3,832**	383,3**	7134**	2,193**	1,714**	0,028**
Resíduos	158	0,234	41,7	1264	0,459	0,228	0,006
Média		6,21	36,61	211,39	3,05	10,16	0,57
CV (%)		7,79	17,64	16,82	22,24	31,8	37,66

** Existe diferença significativa a 1% de probabilidade, entre os acessos de batata-doce de acordo com o teste F. Caracteres avaliados: Diâmetro do entrenó (DE); Produtividade (PROD); Comprimento da raiz tuberosa (CT); Razão comprimento/diâmetro (RCD); Número médio de raízes tuberosas (NMT); Massa média de raízes tuberosas (MMT)

A variabilidade genética encontrada nos acessos pode ser visualizada na Tabela 2.4, uma vez que o teste de Scott-Knott (SCOTT; KNOTT, 1974) determinou a formação de diferentes grupos para todos os caracteres analisados. Para o caráter diâmetro do entrenó (DE), os acessos foram alocados em quatro grupos e variaram entre 3,86 (CG_72) e 8,46 mm (IG_14). Cavalcante, Ferreira e Pereira (2010), avaliando a dissimilaridade genética em acessos de batata-doce, encontraram três grupos para este caráter com variação de 4,33 a 6,00 mm. Quando se utilizam ramas-sementes no plantio, acessos com um diâmetro do entrenó menor apresenta vantagem quanto à preferência da broca-da-rama (*Megastes pusialis* Snellen), por outro lado, apresentam baixa quantidade de reservas necessárias para o desenvolvimento das raízes tuberosas e uma menor resistência à quebra na ocasião do plantio (CAVALCANTE, 2008; CAVALCANTE et al., 2009).

A produtividade variou de 7,41 (IC_31) a 55,65 (IG_4) ton.ha⁻¹, sendo formados quatro grupos. Experimentos realizados nesta cultura, com colheitas aos seis meses, obtiveram genótipos com produtividade oscilando de 4,10 a 33,51 ton.ha⁻¹ (AZEVEDO et al., 2000; CARDOSO et al., 2005) e de 0,78 a 47,54 ton.ha⁻¹, aos cinco meses (AZEVEDO et al., 2015a; CARMONA et al., 2015). Além do tempo de permanência no campo, vários fatores climáticos, como a temperatura, fotoperíodo e radiação solar, podem alterar o desenvolvimento do processo de tuberização das raízes em batata-doce, e consequentemente, a sua produtividade (ERPEN et al., 2013; CARMONA et al., 2015).

Tabela 2.4 – Comparação de médias dos caracteres morfoagronômicos avaliados em 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP, pelo método de Scott-Knott. Piracicaba-SP, 2013-2014

(continua)						
Acessos	DE(mm)	PROD	CT(mm)	RCD	NMR	MMT(kg)
IG_1	7,65 a	34,17 b	200,35 c	4,02 a	24,67 b	0,23 d
IG_2	7,13 a	40,34 b	155,03 c	1,61 d	8,00 f	0,54 c
IG_3	6,63 b	38,13 b	181,62 c	3,24 b	22,33 c	0,19 d
IG_4	7,28 a	55,65 a	322,15 a	4,39 a	10,50 e	0,67 b
IG_5	6,14 b	53,75 a	239,12 b	3,00 c	8,00 f	0,71 b
IG_6	5,30 c	31,81 c	162,87 c	1,84 d	8,17 f	0,50 c
IG_7	7,36 a	50,20 a	225,81 b	3,00 c	12,67 e	0,61 c
IG_8	6,32 b	52,00 a	287,76 a	4,17 a	8,83 f	0,64 b
IG_9	4,16 d	15,22 d	155,68 c	2,69 c	7,17 f	0,36 d
IG_10	4,69 d	28,57 c	247,38 b	2,37 c	4,50 f	1,04 a
IG_11	5,38 c	41,52 b	232,47 b	4,37 a	13,17 e	0,37 d
IG_12	5,78 c	42,31 b	243,56 b	3,87 b	13,17 e	0,49 c
IG_13	3,94 d	14,56 d	168,38 c	2,05 d	4,83 f	0,59 c
IG_14	8,46 a	40,65 b	185,35 c	2,52 c	10,00 e	0,58 c
IG_15	5,81 c	37,22 b	203,05 c	2,81 c	8,50 f	0,58 c
IG_16	7,97 a	36,72 b	214,61 b	2,45 c	8,33 f	0,54 c
IG_17	6,22 b	41,45 b	174,82 c	2,46 c	6,67 f	0,81 b
IG_18	6,33 b	50,34 a	264,42 a	3,31 b	5,17 f	1,16 a
IG_19	5,70 c	40,31 b	192,97 c	3,26 b	8,33 f	0,53 c
IG_20	6,12 b	38,24 b	213,83 b	2,75 c	6,67 f	0,71 b
IG_21	5,85 c	53,20 a	265,66 a	3,87 b	10,50 e	0,65 b
IG_22	6,91 b	50,23 a	275,27 a	4,01 a	10,67 e	0,66 b
IG_23	7,11 a	38,13 b	198,46 c	2,78 c	12,5 e	0,36 d
IG_24	4,50 d	46,73 a	234,84 b	3,29 b	8,00 f	0,75 b
IG_25	5,54 c	34,79 b	254,44 a	3,53 b	3,83 f	1,11 a
IC_26	6,20 b	21,60 d	129,78 c	1,79 d	14,17 e	0,22 d
IC_27	6,28 b	34,00 b	161,60 c	1,75 d	13,67 e	0,46 c
IC_28	6,19 b	38,61 b	198,22 c	1,84 d	4,17 f	1,22 a
IC_29	6,93 b	45,57 a	217,46 b	2,51 c	8,67 f	0,65 b
IC_30	5,96 c	51,11 a	233,56 b	3,45 b	7,83 f	0,86 b
IC_31	5,22 c	7,41 d	141,31 c	2,89 c	7,83 f	0,21 d
IC_32	6,64 b	50,29 a	248,82 b	3,42 b	9,33 e	0,61 c
CA_33	8,09 a	36,84 b	178,98 c	2,53 c	7,17 f	0,48 c
CA_34	6,49 b	32,36 c	149,98 c	3,15 b	25,17 b	0,12 d
CA_35	6,87 b	36,46 b	181,67 c	4,17 a	28,50 b	0,18 d
CA_36	7,17 a	32,14 c	189,65 c	3,70 b	32,83 a	0,14 d
CA_37	4,94 d	49,93 a	147,42 c	1,47 d	12,67 e	0,58 c
CA_38	7,39 a	40,11 b	177,20 c	2,49 c	11,83 e	0,41 c
CA_39	5,16 c	38,34 b	149,42 c	2,93 c	9,33 e	0,52 c
CA_40	7,31 a	43,70 b	208,5 b	2,77 c	6,67 f	0,68 b
CA_41	5,07 c	26,82 c	193,81 c	2,82 c	7,00 f	0,48 c
CA_42	5,99 c	28,91 c	191,80 c	3,22 b	9,67 e	0,39 d
CA_43	6,61 b	26,34 c	232,20 b	3,79 b	8,00 f	0,54 c
CA_44	4,75 d	44,40 a	272,50 a	3,46 b	5,83 f	1,04 a
CA_45	5,06 c	40,46 b	228,12 b	3,48 b	7,50 f	0,66 b
BG_46	7,67 a	30,74 c	269,71 a	4,66 a	7,50 f	0,58 c
BG_47	7,59 a	38,45 b	211,16 b	2,93 c	8,17 f	0,61 c
BG_48	7,20 a	19,61 d	228,62 b	4,47 a	6,50 f	0,28 d

Tabela 2.4 – Comparação de médias dos caracteres morfoagronômicos avaliados em 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP, pelo método de Scott-Knott. Piracicaba-SP, 2013-2014

(conclusão)						
Acessos	DE(mm)	PROD	CT(mm)	RCD	NMR	MMT(kg)
BG_49	7,08 a	21,41 d	293,03 a	5,64 a	8,00 f	0,22 d
BG_50	7,67 a	23,17 c	295,72 a	4,09 a	6,00 f	0,69 b
UB_51	6,63 b	51,02 a	268,08 a	3,82 b	10,00 e	0,72 b
UB_52	7,54 a	51,06 a	252,56 b	3,06 c	7,50 f	0,83 b
UB_53	4,25 d	44,94 a	244,06 b	3,50 b	10,50 e	0,60 c
UB_54	4,54 d	32,53 c	224,32 b	3,58 b	10,00 e	0,46 c
UB_55	4,85 d	34,95 b	257,98 a	3,86 b	4,17 f	0,80 b
UB_56	7,97 a	47,83 a	291,33 a	4,23 a	9,00 e	0,67 b
UB_57	5,58 c	34,08 b	234,89 b	3,66 b	7,83 f	0,59 c
UB_58	6,10 b	55,57 a	264,65 a	3,17 b	8,83 f	0,85 b
UB_59	5,61 c	43,71 b	222,83 b	2,59 c	10,00 e	0,56 c
UB_60	6,76 b	50,56 a	267,21 a	3,34 b	8,50 f	0,77 b
UB_61	4,38 d	11,54 d	124,13 c	1,58 d	4,83 f	0,48 c
UB_62	4,23 d	13,84 d	135,00 c	1,65 d	3,50 f	0,75 b
UB_63	5,67 c	19,11 d	271,72 a	3,68 b	5,17 f	0,44 c
UB_64	7,68 a	44,81 a	211,25 b	3,01 c	10,00 e	0,54 c
UB_65	7,46 a	41,12 b	222,18 b	3,07 c	10,50 e	0,55 c
UB_66	7,54 a	36,38 b	215,09 b	2,96 c	14,00 e	0,39 d
UB_67	7,21 a	35,63 b	245,51 b	2,92 c	5,33 f	1,39 a
UB_68	6,88 b	16,51 d	106,02 c	1,55 d	21,67 c	0,12 d
UB_69	6,99 b	37,73 b	220,23 b	3,24 b	9,50 e	0,55 c
UB_70	4,56 d	36,97 b	236,29 b	3,57 b	8,67 f	0,54 c
CG_71	4,30 d	25,70 c	163,56 c	2,26 d	16,00 d	0,25 d
CG_72	3,86 d	34,49 b	153,30 c	1,85 d	12,33 e	0,49 c
CG_73	5,41 c	23,91 c	174,33 c	3,00 c	10,00 e	0,31 d
CG_74	6,71 b	18,39 d	174,46 c	2,77 c	5,33 f	0,39 d
UB_75	7,07 a	46,05 a	295,15 a	4,08 a	11,67 e	0,72 b
UB_76	5,92 c	23,93 c	108,87 c	1,71 d	9,17 e	0,29 d
PI_77	6,47 b	40,45 b	216,94 b	3,03 c	11,33 e	0,56 c
PI_78	5,85 c	43,65 b	168,29 c	2,03 d	16,50 d	0,37 d
PI_79	6,00 c	29,74 c	160,02 c	2,01 d	17,33 d	0,31 d
BG_80	6,52 b	37,59 b	151,05 c	1,88 d	4,83 f	0,77 b

Médias seguidas pela mesma letra em uma mesma coluna não diferem significativamente pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade. Médias destacadas em negrito representam os valores máximo e mínimo, em cada característica avaliada

DE=Diâmetro do entrenó; PROD=Produtividade total de raízes; CT=Comprimento da raiz tuberosa; RCD=Razão entre o comprimento e diâmetro da raiz; NMT=Número médio de raízes tuberosas; MMT=Massa média de raízes tuberosas

Em relação ao comprimento das raízes tuberosas (CT) ocorreu a formação de três grupos, com os acessos IG_4 (32,21cm) e UB_68 (10,60cm) apresentando a maior e a menor média, respectivamente. A mesma amplitude de variação para CT foi obtida por Carmona et al. (2015) que encontraram genótipos variando de 6,75 a 38,30 cm, diferentemente de Cavalcante, Ferreira e Pereira (2010), que encontraram uma menor variabilidade (12,45 a 18,92 cm) entre os acessos avaliados. Para o caráter que mensura a razão entre o comprimento e diâmetro da raiz (RCD), ocorreu a formação de quatro grupos, com variação de 1,47

(CA_37) a 5,64 (BG_49). Uma maior variabilidade foi encontrado por Carmona et al. (2015), que obtiveram acessos com a razão de 1,32 até 10,15. Segundo a classificação proposta por Silva et al. (1995), as raízes tuberosas deverão apresentar comprimentos de raízes entre 12 e 16 cm e RCD que varie de 2,0 a 2,4 para serem enquadradas dentro do padrão comercial ideal. Desta maneira, apenas os acessos presentes nos grupos “c” e “d” seriam considerados ideais para comercialização, levando-se em consideração os caracteres CT e RCD, respectivamente.

Entre os 80 acessos avaliados, o caráter número médio de raízes tuberosas (NMR) possibilitou a formação de seis grupos. O acesso CA_36 destacou-se por apresentar a maior média (32,55), enquanto o acesso UB_62 (3,50) obteve as menores quantidades de raízes por planta. Os acessos IG_10, IG_18, IG_25, IC_28, CA_44 e UB_67 apresentaram massa média para raízes tuberosas (MMT) acima de 1 kg, sendo incluídos no grupo “a”. Estes valores estão muito acima do padrão comercial (150 a 400g) e aos encontrados por Andrade Junior et al. (2009) e Azevedo et al. (2015b), que avaliaram o desempenho agrônômico de batata-doce no Vale do Jequitinhonha-MG e encontraram médias variando de 53,53 a 293,02g.

As correlações genotípicas foram ligeiramente superiores às fenotípicas e, em geral, os caracteres da parte aérea das plantas obtiveram correlações baixas ou negativas em relação aos caracteres das raízes tuberosas (Tabela 2.5). O tamanho da folha madura (TFM) exibiu uma importante correlação fenotípica positiva com outros caracteres da parte aérea da planta, tais como, o “comprimento do pecíolo” ($r = 0,29$), “diâmetro do entrenó” ($r = 0,50$) e “comprimento do entrenó” ($r = 0,39$). Correlações significativas entre TFM e CP ($r \geq 0,4$) foram encontradas por Yada et al. (2010b) e Neiva et al. (2011) na caracterização morfológica de acessos em bancos de germoplasma de batata-doce.

Correlações significativas e positivas também ocorreram entre a produtividade (PROD) e os caracteres relacionados com as raízes tuberosas, dentre eles, o “comprimento” ($r = 0,52$) e a “massa média” ($r = 0,44$). Além disso, a massa média das raízes tuberosas (MMT) apresentou correlações positivas e significativas com o “comprimento” ($r = 0,48$) e “diâmetro” ($r = 0,56$) das raízes tuberosas. Correlações negativas e significativas foram encontradas entre PROD e CE ($r = -0,4$), DT e NMR ($r = -0,43$) e NMR e MMT ($r = -0,63$). Diferentemente dos resultados obtidos neste estudo, Solankey, Singh e Singh (2015), avaliando a correlação entre alguns caracteres quantitativos em batata-doce, encontraram uma correlação positiva e significativa entre NMR e MMT ($r = 0,53$).

A identificação dos caracteres que apresentam altas correlações é muito importante, uma vez que permite reduzir o número de caracteres necessários nas avaliações em bancos de germoplasma (YADA et al., 2010a).

Tabela 2.5 – Estimativas dos coeficientes de correlação fenotípica (abaixo da diagonal) e de correlação genética (acima da diagonal) entre 10 caracteres morfoagronômicos avaliados em 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP, Piracicaba-SP, 2013-2014

Caracteres ¹	TFM	CP	CE	DE	PROD	CT	DT	RCD	NMR	MMT
TFM	1	0,357*	0,492*	0,602*	-0,060	0,029	-0,142	0,119	-0,054	0,046
CP	0,299*	1	0,236*	0,125	-0,052	-0,089	0,207	-0,061	-0,274*	0,279*
CE	0,396*	0,187	1	-0,078	-0,454*	-0,064	0,156	-0,098	-0,279*	0,135
DE	0,500*	0,079	-0,070	1	0,327*	0,279*	-0,151	0,281*	0,224*	-0,056
PROD	-0,064	-0,040	-0,409*	0,282*	1	0,572*	0,263*	0,272*	0,026	0,528*
CT	0,041	-0,054	-0,066	0,247*	0,521*	1	-0,172	0,843*	-0,326*	0,585*
DT	-0,042	0,077	0,092	-0,112	0,184	-0,055	1	-0,668*	-0,553*	0,571*
RCD	0,080	-0,032	-0,078	0,250*	0,237*	0,783*	-0,615*	1	0,023	0,109
NMR	-0,034	-0,179	-0,242*	0,206	0,037	-0,265*	-0,432*	0,063	1	-0,692*
MMT	0,033	0,166	0,083	-0,049	0,441*	0,483*	0,561*	0,010	-0,634*	1

* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t de *Student*. As correlações fenotípicas, positivas e negativas, mais importantes estão destacadas em negrito.

¹ Tamanho da folha madura (TFM); Comprimento do pecíolo (CP); Comprimento do entrenó (CE); Diâmetro do entrenó (DE); Produtividade (PROD); Comprimento da raiz tuberosa (CT); Diâmetro da raiz tuberosa (DT); Razão comprimento/diâmetro (RCD); Número médio de raízes tuberosas (NMT); Massa média de raízes tuberosas (MMT).

A análise de componentes principais tem como finalidade a redução da dimensionalidade dos dados obtidos, uma vez que consegue transformar estas variáveis originais correlacionadas em variáveis não correlacionadas, em que as primeiras variáveis sempre acumulam a maior parte da variação (MANLY, 2008).

Os quatro primeiros componentes principais (CP's) foram suficientes para explicar 79,37% da variação total contida no conjunto das características morfoagronômicas avaliadas (Tabela 2.6), segundo o critério de Kaiser (ou autovalores superiores a 1). O poder discriminatório dos autovalores foi alto para o CP1 (2,51) e CP2 (2,35), ambos acumulando 48,73% da variabilidade morfoagronômica total.

Yada et al. (2010b), Fongod, Mih e Nkwatoh (2012) e Maquia et al. (2013) avaliando a diversidade genética em batata-doce, por meio de caracteres morfoagronômicos, encontraram que a contribuição dos primeiros CP's para a variabilidade total foi suficiente para diferenciar os acessos. Por outro lado, Tairo, Mneney e Kullaya (2008) encontraram valores relativamente baixos (52,5%) para explicar a variação total retidas nos cinco primeiros

CP's, indicando não existir correlação suficiente entre os caracteres, o que dificulta o uso de poucos CP's para distinguir as variedades.

Tabela 2.6 – Dez primeiros autovalores da análise de componentes principais (ACP), com base nos caracteres morfoagronômicos avaliados em 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP, Piracicaba-SP, 2013-2014

Componente	Autovalores	Variância (%)	Variância acumulada (%)
CP1	2,51	25,16	25,16
CP2	2,35	23,57	48,73
CP3	1,80	18,00	66,73
CP4	1,26	12,64	79,37
CP5	0,82	8,27	87,64
CP6	0,48	4,80	92,44
CP7	0,33	3,31	95,75
CP8	0,22	2,21	97,96
CP9	0,18	1,81	99,77
CP10	0,02	0,23	100,00

A análise dos autovetores associados aos componentes principais indica que os caracteres relacionados às raízes tuberosas foram os que mais contribuíram para a formação dos três primeiros componentes principais (Tabela 2.7). O comprimento das raízes (0,550), massa média das raízes (0,487) e a produtividade (0,435) ficaram responsáveis pela formação do primeiro componente principal (CP1). O segundo componente principal ficou correlacionado com o número médio de raízes (0,416) e a razão comprimento/diâmetro de raízes (0,466), enquanto o terceiro componente ficou associado aos caracteres diâmetro das raízes (0,128) e produtividade (0,262). Os resultados demonstram existir uma elevada variabilidade genética entre os acessos para os caracteres relacionados às raízes tuberosas, uma vez que foram responsáveis pela formação dos três primeiros componentes principais. Yada et al. (2010b) caracterizando acessos em banco de germoplasma de batata-doce, encontraram que o CP1 e CP2 foram formados pela contribuição dos caracteres relacionados à pigmentação na planta e lóbulos da folha, respectivamente.

A representação gráfica da Figura 2.3 permite extrair informações do comportamento dos acessos e dos caracteres avaliados, com base nos dois primeiros componentes principais (48,73%). As linhas que representam as variáveis PROD e CT encontram-se bem próximas, demonstrando uma correlação forte entre estas características. Os caracteres MMT e NMR apresentaram correlações altas e negativas, pois as linhas ficaram próximas ao círculo e em sentidos opostos.

Tabela 2.7 – Conjunto de autovetores associados aos caracteres morfoagronômicos e a cada componente principal, avaliados em 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP. Piracicaba-SP, 2013-2014

Caracteres*	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CP6	CP7	CP8	CP9	CP10
TFM	0,093	0,025	-0,630	-0,239	-0,189	-0,074	0,655	0,239	0,085	0,015
CP	0,081	-0,160	-0,383	-0,094	0,873	0,100	-0,174	0,058	0,048	0,051
CE	-0,049	-0,234	-0,497	0,324	-0,327	0,562	-0,281	-0,282	0,083	-0,013
DE	0,193	0,280	-0,325	-0,510	-0,208	-0,338	-0,535	-0,222	-0,152	-0,022
PROD	0,435	0,122	0,262	-0,387	0,065	0,412	0,224	-0,446	0,382	-0,071
CT	0,550	0,204	0,022	0,240	-0,090	0,064	-0,171	0,388	0,150	0,617
DT	0,153	-0,526	0,128	-0,319	-0,179	0,086	-0,258	0,542	0,211	-0,349
RCD	0,319	0,466	-0,094	0,390	0,077	0,007	-0,034	0,167	0,012	-0,695
NMR	-0,297	0,416	0,058	-0,325	0,010	0,603	-0,047	0,356	-0,364	0,041
MMT	0,487	-0,339	0,061	0,018	-0,004	0,084	0,155	-0,097	-0,774	-0,046

*Tamanho da folha madura (TFM); Comprimento do pecíolo (CP); Comprimento do entrenó (CE); Diâmetro do entrenó (DE); Produtividade (PROD); Comprimento da raiz tuberosa (CT); Diâmetro da raiz tuberosa (DT); Razão comprimento/diâmetro (RCD); Número médio de raízes tuberosas (NMT); Massa média de raízes tuberosas (MMT)

A análise gráfica (Figura 2.3) permite nomear o PC1 como o caráter de produtividade, e o PC2 como o do número médio de raízes. Os acessos IG_1, IG_3, CA_34, CA_35, CA_36 estão fortemente agrupados, pois apresentam elevados números de raízes tuberosas por planta e produtividades relativamente baixas. Este agrupamento revela certa preferência, por parte dos moradores da região do litoral do Vale do Ribeira (Iguape e Cananéia) por consumir variedades de batata-doce com elevados teores de antocianina, composto com propriedades antioxidantes. Apesar de terem sido coletados em quintais diferentes (Tabela 2.1), estes acessos podem ser considerados como duplicatas. Estudos realizados nesta região por Peroni; Martins (2000) indicam que muitas variedades são provenientes da troca ou ganhos de parentes e vizinhos. Outro grupo foi formado pelos acessos UB_61, UB_62 e IG_13, que compartilharam médias baixas para todos os caracteres avaliados. Os acessos IC_28, UB_67, IG_25, UB_58, CA_44, IC_30, IG_5, UB_60, IG_4, UB_56 foram agrupados por possuírem, em comum, poucas raízes tuberosas por planta e elevadas produtividades. Os demais acessos avaliados apresentaram valores intermediários para os caracteres relacionados à produtividade e número médio de raízes tuberosas. Silva, Ponijaleki e Suinaga (2012), avaliando a divergência genética com base em caracteres fenotípicos de raiz, encontraram bastante similaridade entre os acessos avaliados.

Figura 2.3 – Gráfico de dispersão com base nos dois primeiros componentes principais avaliados em 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP. O círculo contém a representação da correlação entre os dez caracteres morfoagronômicos avaliados*. Piracicaba-SP, 2013-2014

* Tamanho da folha madura (TFM); Comprimento do pecíolo (CP); Comprimento do entrenó (CE); Diâmetro do entrenó (DE); Produtividade (PROD); Comprimento da raiz tuberosa (CT); Diâmetro da raiz tuberosa (DT); Razão comprimento/diâmetro (RCD); Número médio de raízes tuberosas (NMT); Massa média de raízes tuberosas (MMT).

O conhecimento da divergência genética disponível em um conjunto de genótipos é de grande importância em programas de melhoramento, por evitar recombinações gênicas semelhantes, com consequente aumento da expressão heterótica em híbridos e de ganhos genéticos em gerações segregantes (CARMONA et al., 2015).

O método de agrupamento de Tocher, com base na medida de dissimilaridade de Mahalanobis, possibilitou a distribuição dos 80 acessos avaliados em 19 grupos (Tabela 2.8). A formação de todos estes grupos evidencia a importância dos caracteres quantitativos na discriminação dos acessos de batata-doce, ao mesmo tempo em que demonstra a elevada variabilidade presente na coleção de trabalho da Esalq/USP. Utilizando o mesmo método de agrupamento, baseado em caracteres quantitativos de batata-doce, Cavalcante, Ferreira e Pereira (2010) encontrou resultados semelhantes, onde na avaliação de 11 acessos possibilitou a formação de cinco grupos.

Os grupos I e IV foram formados pelo maior número de acessos, totalizando 20% e 25% das amostras realizadas, respectivamente. Azevedo et al. (2015a), avaliando a

divergência genética em acessos de batata-doce, com base em caracteres agronômicos voltados à produção de silagem, encontraram uma base genética estreita, em que 75% dos acessos foram colocados no mesmo grupo.

O grupo VIII reuniu a maioria dos acessos que foram obtidos em um antigo banco de germoplasma de batata-doce da Esalq/USP, indicando a possibilidade de serem clones. Segundo Oliveira et al. (2000) a presença de mais de um acesso em determinado grupo pode evidenciar a ocorrência de acessos duplicados. A identificação de duplicatas facilita o manejo do banco de germoplasma, diminui os custos de manutenção e potencializa o acesso dos usuários ao recurso genético (STRAUSS; PINO; COHEN, 1989; BEUSELINCK; STEINER, 1992).

Os acessos IC_28, CA_37, UB_58, UB_67, UB_68, CG_74 e PI_78 ficaram em grupos distintos, demonstrando serem os mais divergentes para os caracteres morfoagronômicos avaliados. Apesar desta variabilidade entre os acessos, quando se pretende realizar o melhoramento genético para uma determinada característica, deve-se levar em consideração além da divergência genética, o desempenho dos acessos para as características de interesse, para que se possa obter variabilidade suficiente nas populações segregantes.

Tabela 2.8 – Agrupamento dos 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP, pelo método de Tocher, com base na matriz de dissimilaridade dos caracteres morfoagronômicos (DE, PROD, CT, RCD, NMR, MMR, TFM, DE e DT), Piracicaba-SP, 2013-2014

Grupos	Acessos	Total
I	UB_54 UB_70 UB_53 CA_45 UB_57 UB_55 CA_44 IG_24 IG_11 IG_15 IG_20 UB_59 IG_21 IG_19 CA_39 IG_6	16
II	CA_41 CG_73 CA_42 UB_63 CA_43 IG_12	6
III	UB_61 UB_62 IG_13 IG_9 IC_31	5
IV	IC_32 UB_60 IG_8 IG_5 IC_30 UB_52 IG_4 UB_64 UB_69 BG_47 CA_40 UB_65 IC_29 UB_56 IG_22 UB_51 UB_75 IG_18 IG_16 CA_38	20
V	IG_3 CA_34 CA_35 IG_1 CA_36	5
VI	IC_26 PI_79 IC_27 UB_76	4
VII	IG_17 BG_80 IG_2	3
VIII	BG_48 BG_49 BG_46 BG_50	4
IX	IG_14 CA_33 IG_23	3
X	IG_7 UB_66 PI_77	3
XI	CG_71 CG_72	2
XII	IG_10 IG_15	2
XIII	IC_28	1
XIV	CA_37	1
XV	UB_58	1
XVI	UB_67	1
XVII	UB_68	1
XVIII	CG_74	1
XIX	PI_78	1

O dendrograma obtido pelo método UPGMA, utilizando a distância de Mahalanobis como medida de dissimilaridade, indicou a formação de oito grupos, ao nível de 37,5% de divergência (Figura 2.4). O grupo I, formado pelos acessos IG_13, UB_61, UB_62, IG_9 e IC_31, apresentou-se bem divergente dos demais grupos. Este grupo compartilha características indesejáveis para um programa de melhoramento, tais como, baixa produtividade, raízes tuberosas pequenas e pouco numerosas, além de ramas finas. Por outro lado, o grupo II caracterizou-se pela excessiva produção de raízes tuberosas, porém com baixas produtividades, enquanto o grupo III, por apresentarem raízes com a mesma massa média e comprimento.

Os grupos IV (UB_58 e UB_67) e VIII (IC_28 e CA_37) compartilharam semelhanças apenas para médias de um caráter, sendo diferentes para os demais. No grupo IV, os acessos apresentaram o mesmo número médio de raízes, enquanto que no grupo VIII, os acessos obtiveram os mesmos comprimentos de raízes tuberosas. Os acessos do grupo V (BG_46, BG_48, BG_49 e BG_50) que compartilharam as características de ramas grossas, raízes tuberosas grandes e pouco numerosas e com baixas produtividades indicam a possibilidade de haver duplicatas remanescentes no antigo banco de germoplasma da Esalq.

Os grupos VI (36,25%) e VII (35%) foram representados pelo maior número de acessos. Os acessos pertencentes ao grupo VI apresentaram produtividade, massa média de raízes tuberosas e diâmetro de entrenó ligeiramente superiores aos representantes do grupo VII.

Alguns pares de acessos (CA_41 e CG_73; UB_54 e UB_70; IG_15 e IG_20; UB_61 e UB_62) apresentaram baixos valores de divergência genética, demonstrando serem duplicatas. Em sua grande maioria são acessos que foram coletados em uma mesma cidade, ou região. A alta correlação entre local de coleta e baixa divergência genética entre estes acessos pode ser explicada pelo fato da ocorrência de constantes intercâmbios de materiais genéticos entre os agricultores e à capacidade de um mesmo genótipo comportar-se de maneira diferencial em função das condições ambientais e de solo (MANIFESTO et al., 2010).

Figura 2.4 - Dendrograma obtido pelo método UPGMA, utilizando-se a distância de Mahalanobis, de 80 acessos de batata-doce 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP, gerado a partir da avaliação de dez caracteres morfoagronômicos. Piracicaba-SP, 2013-2014

2.3.2 Diversidade baseada em descritores morfológicos

As análises descritivas dos 23 caracteres morfológicos demonstram existir uma ampla distribuição dos acessos dentro das notas para as características avaliadas, indicando uma elevada variabilidade fenotípica (Figuras 2.5, 2.6, 2.7 e 2.8). Além disso, 70% das notas ou fenótipos foram identificados na avaliação dos 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP. A ausência de expressão dos demais fenótipos pode estar relacionada, mais provavelmente, à inexistência do caráter dentre os acessos avaliados, ou, em menor escala, em virtude da subjetividade do avaliador.

Com relação aos descritores morfológicos das ramas, houve uma expressão de 80% dos fenótipos (Figura 2.6). Para o caráter comprimento da rama principal (Figura 2.6a), não houve acessos com o fenótipo “ereta” ($< 75\text{cm}$) e a expressão mais frequente foi a do fenótipo “rasteiro” (71,25%), seguido de “extremamente rasteiro” (16,25%) e “semiereto” (12,5%). Estes resultados assemelham-se aos encontrados por Solankey, Singh e Singh (2015), que, avaliando a diversidade genética em acessos de batata-doce, na Índia, encontraram uma variação de 147 a 340 cm para esta característica. Por outro lado, Ritschel e Huamán (2002), avaliando a variabilidade morfológica em acessos do banco de germoplasma de batata-doce, em Brasília-DF, encontraram todas as classes do comprimento da rama principal representadas pelo menos uma vez; no entanto, a maioria dos acessos (73,08%) apresentaram o fenótipo “rasteiro”.

A maioria dos acessos apresentou os fenótipos “intermediário” (53,75%) e “curto” (40%) na avaliação do caráter “comprimento do entrenó” (Figura 2.6b). A distribuição de classes para este caráter diferiu um pouco daquela do trabalho realizado por Ritschel e Huamán (2002), que encontraram 26,04% e 58,58%, para as classes fenotípicas intermediária e curta, respectivamente. Esta diferença pode ser explicada pela herança quantitativa do caráter, uma vez que é fortemente influenciado pelas condições ambientais, mas também por possíveis diferenças genéticas entre as coleções.

Para o caráter diâmetro do entrenó (Figura 2.6c), a maioria dos acessos (66,25%) avaliados foi enquadrada como “fino” (4-6mm) e não houve expressão dos fenótipos “grosso” e “muito grosso”. Resultados semelhantes foram obtidos por Ritschel e Huamán (2002), que não constatarem a presença de acessos com o diâmetro do entrenó “muito grosso”, sendo que apenas 0,3% dos acessos continha o fenótipo “grosso”. Cavalcante et al. (2009), avaliando o potencial produtivo de 11 acessos de batata-doce, em Junqueiro-AL, encontraram apenas fenótipos do tipo “fino”.

Figura 2.6 – Distribuição da quantidade de acessos por nota/fenótipo avaliados com base em seis descritores morfológicos relacionados às ramas, em 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP. Piracicaba-SP, 2013-2014. a=comprimento da rama principal; b= comprimento do entrenó; c= diâmetro do entrenó; d= cor predominante da rama; e= cor secundária da rama; f= tipo de pubescência

Quanto à coloração das ramas (Figuras 2.6d e 2.6e), a maioria dos acessos avaliados apresentou predominantemente a cor verde (81,25%) e ausência de coloração secundária (53,75%). Resultados semelhantes foram obtidos por Andrade (2014), que avaliando 60 genótipos do banco de germoplasma da UFVJM, observou que 66,7 % e 76,7% dos genótipos tinham coloração verde e ausência de cor secundária, respectivamente. Fabri (2009) avaliando a diversidade genética em 135 acessos de batata-doce do banco de germoplasma da Embrapa-CNPH, em Brasília-DF, encontrou que a maioria dos acessos apresentou ramas verdes (50%) como coloração predominante e ausência de cor secundária (51%). Caracterizando morfologicamente 14 acessos de batata-doce do banco de germoplasma da UENF, em Campos dos Goitacazes-RJ, Daros et al. (2002) encontraram que a cor predominante foi o verde (78,57%) e, quanto à cor secundária, ocorreu variação para todas as classes fenótípicas, sendo que o ápice verde (42,86%) se sobressaiu aos demais fenótipos. Por outro lado, Veasey et al. (2007), ao avaliarem 57 variedades tradicionais coletadas no Vale do Ribeira, constataram que a pigmentação predominante das ramas foi “verde com muitas manchas roxas” (29%) ou “com poucas manchas roxas” (27%), seguidos de “predominantemente roxa” (25%).

Dentre os caracteres relacionados às ramas que foram avaliados, o tipo de pubescência (Figura 2.6f) foi o que apresentou maior variabilidade entre os acessos, sendo o fenótipo “moderada” (42,5%) a mais frequente. Ampla variação para este caráter, também foi reportada nas avaliações de Ritschel e Huamán (2002) e Veasey et al. (2007) que constataram o fenótipo “moderada” (59,47%) e “ausente” (33%) como os mais frequentes, respectivamente.

Os caracteres pertencentes ao grupo das folhas mostraram expressão em apenas 62,17% das classes fenótípicas avaliadas (Figura 2.7). O caráter cor da folha madura (Figura 2.7h) reduziu os índices de expressão para o grupo das folhas, uma vez que 97,5% dos acessos apresentaram a coloração verde e somente um acesso exibiu folhas verdes com nervuras roxas na superfície abaxial.

Figura 2.6 – Distribuição da quantidade de acessos por nota/fenótipo avaliados em dez descritores morfológicos relacionados às folhas, para 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP, Piracicaba-SP, 2013-2014. a= Formato geral da folha madura; b= Tipo de lóbulo da folha; c= Número de lóbulos da folha; d= Forma do lóbulo central; e= Tamanho da folha madura; f= Pigmentação do pecíolo; g= Pigmentação das nervuras; h= Cor da folha madura; i= cor da folha imatura; j= Comprimento do pecíolo

O caráter “cor da folha imatura” (Figura 2.7i) mostrou ampla variação para os fenótipos avaliados, só não ocorrendo a coloração verde-amarelada. Segundo Daros et al. (2002), este caráter revela-se tanto mais útil na discriminação de acessos quanto maior a ocorrência de grande variabilidade fenotípica. Em geral, estes resultados assemelham-se aos encontrados por Fabri (2009), Moulin et al. (2012) e Andrade (2014), que constatarem ampla variação de cores para o caráter folhas imaturas e a ocorrência predominante de folhas maduras verdes. No entanto, Veasey et al. (2007) encontram uma maior variação para o caráter folha madura, em que a coloração das folhas verdes foram mais abundantes (60%), seguidos de verde com a extremidade roxa (30%) e verdes com superfície abaxial roxa (10%).

O formato geral predominante da folha madura (Figura 2.7a) foi o “triangular” (48,75%), seguido de “lobada” (23,75%), “cordada” (17,5%) e “hastada” (10%). Andrade (2014) encontrou formatos e frequências fenotípicas quase semelhantes aos deste estudo. Por outro lado, Ritschel e Huaman (2002) encontraram maiores frequências para o formato “cordado” (49,7%), enquanto que Fabri (2009) e Moulin et al. (2012), “folhas lobuladas”.

Grande variabilidade entre os acessos foi constatada para o caráter “tipo de lóbulo” da folha (Figura 2.6b), em que apenas o fenótipo com a ausência de lóbulos laterais não pôde ser visualizado. Os fenótipos para o formato do tipo de lóbulo mais comuns entre os acessos avaliados foram o “muito superficial” (52,5%) e “superficial” (26,25%). Ritschel e Huamán (2002) e Daros et al. (2002) também compartilharam os mesmo resultados, verificando que a maioria dos acessos apresentou os formatos “muito superficial” e “superficial”, além de nenhum genótipo ter sido descrito com ausência de lóbulos laterais. Diferentemente, Veasey et al. (2007), Fabri (2009) e Moulin et al. (2012) encontraram acessos que exibiram o formato “ausência de lóbulos laterais”.

Quanto ao número de lóbulos da folha (Figura 2.7c), a maioria dos acessos apresentou um lóbulo (45%), seguidos de três (40%), cinco (10%) e sete (5%) lóbulos, demonstrando existir uma grande variabilidade para o caráter. A mesma variação foi constatada para o formato do lóbulo central (Figura 2.7d), que comporta uma ampla distribuição nas frequências dos acessos, que exibiram os fenótipos “triangular” (52,5%), “dentado” (17,5%), “semielíptico” (15%), “lanceolado” (8,75%), “elíptico” (6,25%) e “semicircular” (3,75%). Ritschel e Huamán (2002), Veasey et al. (2007) e Fabri (2009) encontraram variação semelhante a essa para o número de lóbulos da folha, enquanto que Moulin et al. (2012) encontraram acessos que variaram de um a cinco lóbulos. Para o formato do lóbulo central, Moulin et al. (2012) constatarem os mesmos fenótipos, porém com frequências distintas das observadas neste estudo.

A maioria dos acessos exibiram folhas maduras com o tamanho médio (8-15cm) e apenas 12,5% tiveram folhas grandes (16-25cm) (Figura 2.7e). Por outro lado, Daros et al. (2002) visualizaram apenas acessos com fenótipos “médio” e Moulin et al. (2012) encontraram os fenótipos “médio” (66%) e “pequeno” (34%). Estas diferenças encontradas no tamanho da folha nestas avaliações podem ser explicadas pelo fato de o caráter ser altamente influenciado pelas condições ambientais, além da possibilidade de as coleções serem diferentes geneticamente.

Uma grande variabilidade foi observada no caráter “pigmentação do pecíolo” (Figura 2.6f), sendo mais frequentes os pecíolos “verdes” (42,5%), “verde com roxo próximo ao limbo foliar” (28,75%) e “verde com roxo nas duas extremidades” (17,5%). Pecíolos “verdes com listras roxas” e “roxos com verde próximos ao limbo foliar” não foram observados entre os acessos avaliados. Estes resultados assemelham-se aos obtidos por Daros et al. (2002), Ritschel e Huamán (2002) e Andrade (2014), que demonstraram uma grande variabilidade para este caráter e ausência dos mesmos fenótipos. Por outro lado, o fenótipo “pecíolo verde com listras roxas” foi o mais frequente na avaliação realizada por Veasey et al. (2007), em acessos no Vale do Ribeira.

Com relação à pigmentação das nervuras (Figura 2.7g), constatou-se que os fenótipos “verde” (43,75%), “manchas roxas na base da nervura principal” (23,75%) e “nervura principal parcialmente roxa” (13,75%) foram os mais frequentes, dentre os acessos avaliados. Para Ritschel e Huamán (2002), o fenótipo mais frequente foi a “pigmentação de todas as nervuras parcialmente roxas” (36,09%), enquanto que, para Veasey et al. (2007), o mais abundante foi a “pigmentação de todas as nervuras parcialmente ou totalmente roxas” (45%), principalmente para os acessos provenientes do município de Iguape.

Dentre os acessos avaliados, a grande maioria (70%) apresentou o comprimento do pecíolo “intermediário” (21-30cm), os demais exibiram pecíolos “grandes” (16,25%) e “curtos” (13,75%) e não foram encontrados os pecíolos “muito curtos” (<10cm) e “muito longo” (>40cm) (Figura 2.7j). Solankey, Singh e Singh (2015) corroboram estes resultados, uma vez que o comprimento do pecíolo variou de 11,2cm a 34cm. Por outro lado, Fabri (2009) observaram os fenótipos “muito longo” e Ritschel e Huamán (2002) encontraram pecíolos com comprimento inferiores a 10cm.

Para os caracteres relacionados às raízes tuberosas, houve 75% de expressão dos fenótipos, dentre os caracteres avaliados (Figura 2.8).

Figura 2.8 – Distribuição da quantidade de acessos por nota/fenótipo avaliados por meio de sete descritores morfológicos relacionados às raízes tuberosas, para 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP. Piracicaba-SP, 2013-2014

O caráter formato das raízes tuberosas (Figura 2.8a) apresentou a maior variabilidade (100%) dentre todas as características avaliadas, demonstrando ser um bom indicativo na discriminação de acessos em bancos de germoplasma. Os fenótipos “longa oblonga” (20%), “longa elíptica” (20%) e “oblonga” (12%) foram os mais comuns entre os acessos avaliados. Ampla variação para este caráter, também foi reportada por Moulin et al. (2014) para acessos do banco de germoplasma da UENF, sendo mais frequentes os fenótipos com as formas “longa irregular” (56,5%) e “oval” (19,6%). Por outro lado, Ritschel e Huamán (2002), Daros et al. (2002) e Fabri (2009) obtiveram em suas avaliações um maior percentual de acessos com o formato longo elíptico, mas não havia acessos com o formato “oval”. Segundo Fabri (2009), os fenótipos longo elíptico e elíptico são os mais desejados para comercialização.

O caráter “defeito na superfície das raízes tuberosas” (Figura 2.8b) também apresentou uma grande variação, apenas o fenótipo “constricções e fendas profundas” não foi encontrado entre os acessos. Porém, outros defeitos foram encontrados entre os acessos avaliados, e alguns deles exibiram simultaneamente “veias” e “dobras rasas”, e outros, “veias” e “dobras profundas”, onde foram enquadrados na categoria “outros”. Estes resultados discordam dos obtidos por Ritschel e Huamán (2002) e Moulin et al. (2014) que encontraram apenas três e cinco classes fenotípicas, respectivamente, para os acessos avaliados.

Em batata-doce, a coloração das raízes tuberosas é uma das características com grande importância para os programas de melhoramento genético (MANIFESTO et al., 2010). A avaliação descritiva dos 80 acessos neste estudo demonstrou existir grande variabilidade para os caracteres morfológicos relacionados à coloração da película e polpa nas raízes tuberosas (Figuras 2.8c a 2.8g). Quanto ao caráter “cor predominante da pele” da raiz tuberosa (Figura 2.8c), uma grande variabilidade fenotípica foi observada e a maioria dos acessos apresentou as colorações “roxo-avermelhado” (26,25%), “creme” (20%) e “amarelo” (18,75%). Estes dados foram semelhantes aos obtidos por Manifesto et al. (2010) que, avaliando 310 acessos do banco de germoplasma na Argentina, encontraram ampla variação para este caráter, sendo os fenótipos “branco” (27,51%), “creme” (25,29%) e “roxo-avermelhado” (22,01%) os mais frequentes. Variedades tradicionais de batata-doce coletadas no Vale do Ribeira também exibiram grande variabilidade, quando avaliadas por Veasey et al. (2007), que constataram a presença de fenótipos com as colorações “creme” (40%), “rosada” (26%), “branca” (9,5%) e “roxa” (9,5%). Quanto à intensidade da coloração da película na raiz tuberosa (Figura 2.8d), observou-se que o fenótipo “intermediário” foi predominante (52,5%) entre os acessos. Estes resultados foram semelhantes aos obtidos por Daros et al. (2002) e Moulin et al. (2014), que

encontraram predominância para o fenótipo “intermediário”, enquanto que, para Fabri (2009), a intensidade escura (76%) da película da raiz foi a mais frequente.

Para o caráter cor predominante da polpa (Figura 2.8e), constatou-se que os fenótipos “creme-escura” (38,75%), “creme” (30%), “fortemente pigmentado com antocianinas” (11,25%) e “laranja-escura” (10%) foram os mais comuns, enquanto que, para cor secundária da polpa (Figura 2.8f), destacaram-se as colorações “amarela” (43,75%) e a “creme” (26,25%). A coloração “creme”, como cor predominante e secundária da polpa, foi observada para a maioria das etnovarietades avaliadas por Veasey et al. (2007), no Vale do Ribeira. Moulin et al. (2014), avaliando o caráter da cor predominante da polpa encontraram apenas acessos que exibiram a cor “creme” (93,5%) e “branca” (6,5%), por outro lado, Manifesto et al., (2010) observaram uma grande variação para este caráter entre os acessos avaliados.

A “distribuição da cor secundária da polpa” (Figura 2.8g) com maior destaque foi “anel estreito no córtex” (28,75%) e “anel e outras manchas na polpa” (20%). Por outro lado, Veasey et al. (2007) constataram que a maioria dos acessos (73%) avaliados no Vale do Ribeira apresentavam o “anel estreito próximo ao córtex”.

A transformação das notas/fenótipos em informações binárias permitiu a obtenção de um dendrograma que demonstrou uma elevada variabilidade (83%) entre os acessos (Figura 2.9). Do mesmo modo, uma década atrás, Veasey et al (2007, 2008) avaliando variedades de batata-doce na região do Vale do Ribeira, com marcadores morfológicos e moleculares, encontraram altos percentuais de variação. Estas informações sugerem que, mesmo após uma intensa modificação nos hábitos e costumes, os agricultores desta região ainda mantêm uma grande parte da variabilidade genética.

Embora o dendrograma tenha sido obtido por meio dos dados coletados na avaliação de todos os caracteres morfológicos, é perceptível a contribuição do formato das folhas e coloração das películas das raízes tuberosas, na formação da maioria dos grupos. Para Moulin et al. (2014) as características que mais contribuíram para a diversidade fenotípica foram a cor da película e o formato da raiz; por outro lado, Veasey et al. (2007) afirmam que foram os caracteres “cor secundária da polpa”, “formato das raízes” e “defeitos na superfície da raiz”.

A análise do dendrograma, com as representações de raízes tuberosas e folhas em cada acesso, permitiu constatar a formação de seis grupos. Os grupos I (IG_13, UB_55 e UB_70) e III (CA_39, UB_69, IG_8, IC_31, UB_59, IG_15, IG_17, IG_19, IG_21, IG_22), apresentaram folhas com três lóbulos e cinco ou mais lóbulos, respectivamente, porém não se assemelharam quanto à coloração das raízes.

Figura 2.9 - Dendrograma obtido pelo método UPGMA, utilizando-se o coeficiente de similaridade de Jaccard, por meio de 23 descritores morfológicos para 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP. Piracicaba-SP, 2013-2014

O grupo IV (UB_63, PI_78, CA_24, IG_3, CA_35, CA_36) exibiu raízes tuberosas com a coloração roxa-escura e folhas parcialmente lobadas e cordiformes. O grupo V compartilhou folhas quase lobadas e a coloração das raízes variou entre creme e rosa. Embora o grupo VI tenha incorporado a maioria dos acessos (63,75%), pode-se constatar a formação de subgrupos. No nível de grupo não foi possível constatar padrões nos formatos de folhas e raízes tuberosas, provavelmente em virtude do ponto de corte. No entanto, o subgrupo formado pelos acessos UB_56, UB_75, IG_4, UB_51, IG_10 e CA_42 exibiu formato cordiforme nas folhas e coloração da película branca. Outro subgrupo que merece destaque é o formado pelos acessos BG_46, BG_50, BG_48 e BG_49, que exibiram folhas no formato cordiforme, com seio peciolar profundo e ponta da folha afilada e diversas tonalidades de amarelo para a pigmentação das raízes. Embora a análise dos dados quantitativos (Figura 2.4) tenha sugerido que estes acessos seriam duplicatas, esta análise revela que os mesmos apresentam certas tonalidades diferentes para a polpa e película das raízes tuberosas. Desta forma, o descarte destes materiais poderá causar danos irreversíveis, sendo necessários estudos com base no sequenciamento de DNA ou em outras técnicas genéticas para a obtenção de informações mais concretas.

O subgrupo formado pelos acessos IG_24, CA_45, UB_53, CA_44, UB_54 e UB_57 exibiram folhas com o seio peciolar raso e raízes tuberosas com a pigmentação da pele vermelha e roxa-avermelhada, enquanto que o subgrupo dos acessos CG_71, PI_79, IG_6 e IC_27 apresentou raízes com o formato arredondado e coloração creme.

Por meio da análise visual do dendrograma pode-se inferir que não foi possível um agrupamento entre os acessos, com base nas regiões coletadas e nem dentro de regiões. Esta falta de correlação entre distâncias geográfica e morfológica também foi reportada nos trabalhos realizados por Veasey et al. (2007, 2008) e Moulin et al. (2012, 2014) em variedades de batata-doce, do Vale do Ribeira e norte do Estado do Rio de Janeiro, respectivamente. Zhang et al. (2014), avaliando 240 acessos do banco de germoplasma na China, por meio de marcadores ISSR, também não encontraram correlação entre o padrão de coloração da polpa das raízes tuberosas ou regiões geográficas que pudesse explicar a estruturação da populações.

A análise molecular de variância (AMOVA), extraída das informações dos fenótipos que foram transformados em dados binários, indicou que a maior parte da diversidade genética está entre os acessos (97%) e apenas 4,1% entre cidades dentro de regiões (Tabela 2.9). Utilizando marcadores morfológicos, Veasey et al. (2007) encontram que a maior parte da diversidade (64,4%) foi distribuída dentro de domicílios, enquanto 27,1% entre domicílios

dentro de comunidades e apenas 8,4% entre comunidades, em um total de 53 variedades coletadas em 30 domicílios. Liu et al. (2012) avaliando 98 variedades plantadas na China, por meio de marcadores AFLP, constataram que a maior parte da variabilidade foi devida a diferenças dentro de regiões (94,08%), enquanto a variação entre regiões foi muito baixa (5,82%). No mesmo sentido, Zawedde et al. (2015), avaliando com marcadores microsatélites 230 acessos pertencentes a bancos de germoplasma de oito países, incluindo o Brasil, encontraram que a maior parte da variação se deu entre países (76%) e apenas 24% dentro de países.

Tabela 2.9 – Análise molecular de variância (AMOVA) feita com dados binários transformados a partir de 23 caracteres morfológicos de ramas, folhas e raízes tuberosas, em 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP, Piracicaba-SP, 2013-2014

Fonte de Variação	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	Componentes de Variância	Porcentagem de Variação (%)
Entre regiões	2	18,276	-0,163	-1,112
Entre cidades dentro de regiões	4	19,831*	0,603	4,107
Entre acessos	73	14,246*	14,246	97,005
Total	79	14,631	14,685	100

*Significativo a 5 % pelo teste t de *Student*

Segundo Veasey et al. (2007), a alta diversidade verificada entre acessos é devida principalmente à variabilidade intravarietal, onde ramas vegetativas de uma mesma variedade pode exibir fenótipos diferentes, quando avaliados em uma mesma condição ambiental. Além disso, o elevado nível de diversidade genética pode estar associado com altas frequências de mutações somáticas (HERNANDEZ; HERNANDEZ; MILLER, 1964). A autoincompatibilidade e propagação realizada por meio de estacas vegetativas nesta cultura também contribuem para ampliar a variação genética encontrada nos acessos (MARTIN, 1965; HE et al., 2006).

Uma segunda metodologia utilizada para averiguar a formação dos grupos foi a análise discriminante por componentes principais (ADCP), podendo ser visualizada por meio de um gráfico de dispersão (Figura 2.10c). Para tanto, um gráfico de barras com autovalores da análise discriminante foi utilizado para selecionar as três funções discriminantes a serem retidas (Figura 2.10a). Para a visualização da formação dos quatro grupos encontrados foi utilizado o critério de informação bayesiana (CIB), que leva em consideração a elevação do ângulo na curva dos valores de CIB para “k” grupos (Figura 2.10b).

Figura 2.10 – Análise discriminante por componentes principais (ADCP) para inferir a estruturação dos 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP. A) Autovalores correspondentes aos componentes representados estão preenchidos em preto; B) Critério de informação bayesiana *versus* número de grupos. C) Gráfico de dispersão dos dois primeiros componentes principais da análise ADCP de 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP Piracicaba-SP, 2013-2014

A análise ADCP permitiu a formação de poucos grupos, quando comparados aos grupos formados pelo método UPGMA, com um ponto de corte realizado no nível de 78% de variação. No entanto, isso é devido à abordagem da ADCP, que se baseia em funções discriminantes para maximizar a divergência entre grupos enquanto minimiza a diversidade dentro do grupo (JOMBART; DEVILLARD; BALLOUX, 2010).

O agrupamento formado pela ADCP não foi muito consistente com as informações obtidas pelo método UPGMA. Apenas o grupo (verde) formado pelos acessos PI_78, CA_24, IG_3, CA_35, CA_36, assemelham-se aos resultados obtidos para o grupo IV indicado pelo dendrograma (Figura 2.9), em que compartilharam raízes tuberosas com coloração roxa escura. Os demais acessos não apresentaram um padrão de agrupamento que pudesse se assemelhar aos resultados obtidos pelo método UPGMA.

Uma das características interessantes do método ADCP é que ele permite averiguar quais alelos da região do genoma mais contribuíram para divergência genética dos grupos (JOMBART; DEVILLARD; BALLOUX, 2010). Assim, como as notas dos caracteres morfológicos foram utilizadas em lugar dos alelos contidos nos loci gênicos, extrapolou-se esta informação para avaliar o conjunto de dados morfológicos avaliados. Após a análise, constata-se que os loci relacionados aos caracteres “número de lóbulos das folhas”, “cor predominante da rama” e “pigmentação do pecíolo” foram os que mais contribuíram para a discriminação destes grupos. Da mesma maneira, Yada et al. (2010), caracterizando germoplasma por meio de marcadores morfológicos em acessos de batata-doce, afirmam que os caracteres relacionados à pigmentação nas plantas e lóbulos da folha foram os mais importantes na discriminação dos acessos.

Apesar da notável diferença observada na coloração das raízes entre os acessos do grupo azul com os demais grupos, vale ressaltar que o caráter “cor predominante da rama” também foi importante nesta discriminação. Os acessos representados pelos grupos destacados em vermelho e preto divergiram principalmente quanto à pigmentação do pecíolo. Neste caso, os acessos do grupo vermelho apresentaram os fenótipos para cor do pecíolo variando de “verde com roxo nas extremidades” a “pecíolos predominantemente roxos”, enquanto os acessos do grupo preto apresentaram apenas pecíolo com a coloração verde.

Analizando o ADCP, foi possível constatar uma sobreposição entre os acessos dos grupos preto e verde. De maneira geral, a análise dos dados revela que os acessos do grupo preto tiveram folhas com três lóbulos, enquanto os do grupo verde, com apenas um lóbulo. Além disso, todos os acessos do grupo verde exibiram pigmentação do pecíolo verde, enquanto os acessos do grupo preto apresentaram uma ampla variação para este caráter,

incluindo a coloração verde, o que poderia justificar a sobreposição entre alguns acessos. O caráter “número de lóbulos da folha” também foi o mais importante na divergência entre os acessos dos grupos vermelho e verde, em que aqueles exibiram folhas com três ou mais lóbulos.

Estes resultados demonstram que a ADCP também foi eficiente na separação dos grupos, com base nos dados fenotípicos avaliados. No entanto, Rabbi et al. (2015), avaliando 917 acessos de um banco de germoplasma de mandioca, utilizando o sequenciamento por genotipagem, descrevem que o método não foi muito eficiente na discriminação dos grupos, provavelmente em virtude da estruturação contínua da população. Segundo Jombart, Devillard e Balloux (2010), o método ADCP tem um desempenho melhor em populações descontínuas, como no modelo de ilhas. Ainda, para estes autores, no caso de espécies de propagação vegetativa, existe um sistema complexo de cruzamento entre gerações resultando em grupos que tendem a se dissolver em padrões clinais de diferenciação genética.

2.4 Conclusões

- * Existe uma grande variabilidade genética entre os acessos coletados no litoral Norte e do Vale do Ribeira, no Estado de São Paulo;
- * A caracterização agrônômica foi eficiente para estimar a diversidade genética. Além disso, pode servir como fonte de informações para um futuro programa de melhoramento na cultura;
- * A análise discriminante por componentes principais (ADCP) constitui uma metodologia adicional a ser utilizada na averiguação da diversidade genética, quando se dispõe de dados binários provenientes da avaliação de caracteres morfológicos;
- * Não se observou qualquer estruturação espacial da variabilidade.

Referências

ANDRADE, E.K.V de. **Caracterização morfológica e molecular de genótipos de batata-doce**. 2014. 48 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2014.

ANDRADE JUNIOR, V.C.; VIANA, D.J.S.; FIGUEIREDO, J.; NUNES, U.R.; NEIVA, I.P. Selection of sweet potato clones for the region Alto Vale do Jequitinhonha. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 389–393, 2009.

AZEVEDO, S.M. de; FREITAS, J.A. de; MALUF, W.R.; SILVEIRA, M.A. da. Desempenho de clones e métodos de plantio de batata - doce. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 22, n. 4, p. 901–905, 2000.

AZEVEDO, A.M.; ANDRADE JÚNIOR, V.C. FERNANDES, J.S.C.; PEDROSA, C.E.; OLIVEIRA, C.M. Desempenho agrônomo e parâmetros genéticos em genótipos de batata-doce. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 2, p. 251–256, 2015a.

AZEVEDO, A.M.; ANDRADE JÚNIOR, V.C.; FIGUEIREDO, J.A.; PEDROSA, C.E.; VIANA, D.J.S.; LEMOS, V.T.; NEIVA, I.P. Divergência genética e importância de caracteres em genótipos de batata-doce visando a produção de silagem. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, Recife, v. 10, n. 3, p. 479–484, 2015b.

BEUSELINCK, P.R.; STEINER, J.J.A Proposed framework for identifying, quantifying, and utilizing plant germplasm resources. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 29, p. 261–272, 1992.

CAMUS, P.; LEBOT, V. On-farm assessment of clonal introduction of root crops diversity in Vanuatu, Melanesia. **Experimental Agriculture**, Collingwood, v. 46, n. 4, p. 541–559, 2010.

CARDOSO, A.D.; VIANA, A.E.S.; RAMOS, P.A.S.; MATSUMOTO, S.N.; AMARAL, C.L.F.; SEDIYAMA, T.; MORAIS, O.M. Avaliação de clones de batata-doce em Vitória da Conquista. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 4, p. 911–914, 2005.

CARMONA, P.A.O.; PEIXOTO, J.R.; AMARO, G.B.; MENDONÇA, M.A. Divergência genética entre acessos de batata-doce utilizando descritores morfoagronômicos das raízes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 2, p. 251–256, 2015.

CAVALCANTE, M. **Caracterização morfológica, desempenho produtivo e divergência genética de genótipos de batata-doce**. 2008. 46p. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Produção Vegetal) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo. 2008.

CAVALCANTE, M.; FERREIRA, P.V.; PEREIRA, R.G. Agronomic performance, genetic dissimilarity and parental selection of sweet potato for hybridization. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, n. 82, p. 485–490, 2010.

CAVALCANTE, M.; FERREIRA, P.V.; PAIXÃO, S.L.; DA COSTA, J.G.; PEREIRA, R.G.; SILVA MADALENA, J.A da. Potenciais produtivo e genético de clones de batata-doce. **Acta Scientiarum - Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 3, p. 421–426, 2009.

DAROS, M.; AMARAL JÚNIOR, A.T.; PEREIRA, T.N.S.; LEAL, N.R.; FREITAS, S.P.; SEDIYAMA, T. Caracterização morfológica de acessos de batata-doce. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 43–47, 2002.

ERPEN, L.; STRECK, N.A.; UHLMANN, L.O.; FREITAS C.P.D. de; ANDRIOLO, J.L. Tuberação e produtividade de batata-doce em função de datas de plantio em clima subtropical. **Bragantia**, Campinas, v. 72, n. 4, p. 396–402, 2013.

FABRI, E.G. **Diversidade genética entre acessos de batata-doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] avaliada através de marcadores microssatélites e descritores morfoagronômicos**. 2009. 172 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

FAO. **FAO statistical database**. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/home/index.html>>. Acesso em: 15 dez. 2015.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3 ed., Viçosa:UFV, 2008. 421 p.

FONGOD, A.G.N.; MIH, A.M.; NKWATOH, T.N. Morphological and agronomical characterization of different accessions of sweet potato (*Ipomoea batatas*) in Cameroon. **International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science**, New Jersey, v. 2, n. 6, p. 234–245, 2012.

HE, X.; LIU, Q.; ISHIKI, K.; ZHAI, H.; WANG, Y. Genetic diversity and genetic relationships among Chinese sweet potato landraces revealed by RAPD and AFLP markers. **Breeding Science**, Tokyo, v. 56, p. 201–207, 2006.

HERNANDEZ, T.P.; HERNANDEZ, T.; MILLER, J.C. Frequency of somatic mutations in several sweet potato varieties. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 85, p. 430–434, 1964.

HU, J.; NAKATANI, M.; LALUSIN, A.G.; KURANOUCI, T.; FUJIMURA, T. Genetic analysis of sweet potato and wild relatives using inter-simple sequence repeats (ISSRs). **Breeding Science**, Tokyo, v. 53, p. 297–304, 2003.

HUAMAN, Z. **Descriptors for sweet potato**. Rome: International Board for Plant Genetic Resources, 1991. 133 p.

HUAMAN, Z.; AGUILAR, C.; ORTIZ, R. Selecting a peruvian sweet potato core collection on the basis of morphological, eco-geographical, and disease and pest reaction data. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 98, n. 5, p. 840–844, 1999.

JARVIS, D.I.; MYER, L.; KLEMICK, H.; GUARINO, L.; SMALE, M.; BROWN, H.D.; SADIKI, M.; STHAPIT, B.; HODGKIN, T. **A training guide for in situ conservation on-farm version**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 2000. 190 p.

JELIHOVSCHI, E.; FARIA, J.C.; ALLAMAN, I.B. The ScottKnott Clustering Algorithm R Core Developmental Team. **Tendências em Matemática Aplicada e Computacional**, São Carlos, v.15, n.1, p. 3-17, 2014.

JOMBART, T.; COLLINS, C. Adegnet: A R package for the multivariate analysis of genetic markers. **Bioinformatics**, Cary, v. 24, p.1403-1405, 2008.

JOMBART, T.; DEVILLARD, S.; BALLOUX, F. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. **BMC Genetics**, Austin, v. 11, n. 1, p. 94, 2010.

KARURI, H.W.; ATEKA, E.M.; AMATA, R.; NYENDE, A.B.; MUIGAI, A.W.T.; MWASAME, E.; GICHUKI, S.T. Evaluating diversity among Kenyan sweet potato genotypes using morphological and SSR markers. **International Journal of Agriculture and Biology**, Beijing, v. 12, n. 1, p. 33–38, 2010.

LEBOT, V. **Tropical root and tuber crops: cassava, sweet potato, yams and aroids**. Wallingford: CAB, 2009. 432 p.

LIU, D.; ZHAO, N.; ZHAI, H.; YU, X.; JIE, Q.; WANG, L.; HE, S.; LIU, Q. AFLP fingerprinting and genetic diversity of main sweet potato varieties in China. **Journal of Integrative Agriculture**, Amsterdam, v. 11, n. 9, p. 1424–1433, 2012.

MANIFESTO, M.M.; COSTA TÁRTARA, S.M.; ARIZIO, C.M.; ALVAREZ, M.A.; HOMPANERA, N. R. Analysis of the morphological attributes of a sweet potato collection. **Annals of Applied Biology**, London, v. 157, n. 2, p. 273–281, 2010.

MANLY, B.F.J. **Métodos estatísticos multivariados: uma introdução**. 3. ed. Porto Alegre: Bookman, 2008. 230 p.

MAQUIA, I.; MUOCHA, I.; NAICO, A.; MARTINS, N.; GOUVEIA, M.; ANDRADE, I.; GOULAO, L.F.; RIBEIRO, A.I. Molecular, morphological and agronomic characterization of the sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) germplasm collection from Mozambique: genotype selection for drought prone regions. **South African Journal of Botany**, Scottsville, v. 88, p. 142–151, 2013.

MARTIN, F.W. Incompatibility in the sweet potato, a review. **Economic Botany**, New York, v. 19, p. 406–415, 1965.

MOULIN, M.M.; BENTO, C.S.; SANTOS JÚNIOR, A.C.; RODRIGUES, R. Caracterização de acessos de batata-doce baseado em características morfológicas. **Perspectivas Online: Biologia & Saúde**, Campos de Goytacazes, v. 13, n. 4, p. 23–36, 2014.

MOULIN, M.M.; RODRIGUES, R.; GONÇALVES, L.S.; SUDRÉ, C.P.; SANTOS, M.H. dos; SILVA, J.R.P. da. Collection and morphological characterization of sweet potato landraces in north of Rio de Janeiro state. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 286–292, 2012.

NEIVA, I.P.; ANDRADE JÚNIOR, V.C. de; VIANA, D.J.S.; FIGUEIREDO, J.A.; MENDONÇA FILHO, C.V.; PARRELLA, R.D.C.; SANTOS, J.B. Caracterização morfológica de acessos de batata-doce do banco de germoplasma da UFVJM, Diamantina. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 4, p. 537–541, 2011.

OLIVEIRA, A.C.B.; SEDIYAMA, M.A.N.; SEDIYAMA, T.; CRUZ, C.D. Avaliação da divergência genética em batata-doce por procedimentos multivariados. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 22, n. 4, p. 895–900, 2000.

PAM. **Produção agrícola municipal: culturas temporárias e permanentes**. Rio de Janeiro: IBGE, 2014. v. 41, 100 p.

PETER, R.; MINCHIN, R. B.; O'HARA, G. L. SIMPSON, P. S., HENRY, M.; STEVENS, H.; WAGNER, H. (2015). **vegan: Community Ecology Package**. R package version 2.3-0. Disponível em: <http://CRAN.R-project.org/package=vegan> Acesso em: 15 fevereiro de 2016.

PERONI, N.; MARTINS, P.S. Influência da dinâmica agrícola itinerante na geração de diversidade de etnovariedades cultivadas vegetativamente. **Interciência**, Caracas, v. 25, n. 1, p. 22–29, 2000.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2016. Disponível em: <<http://www.r>>. Acesso em: 20 fev. 2016

RABBI, I.Y.; KULAKOW, P.A.; MANU-ADUENING, J.A.; DANKYI, A.A.; ASIBUO, J.Y.; PARKES, E.Y.; ABDOLAYE, T.; GIRMA, G.; GEDIL, M.A.; RAMU, P.; REYES, B.; MAREDA, M.K. Tracking crop varieties using genotyping-by-sequencing markers: a case study using cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **BMC Genetics**, Austin, v. 16, n. 1, p. 115, 2015.

RITSCHER, P.S.; HUAMÁN, Z. Variabilidade morfológica da coleção de germoplasma de batata-doce da Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 4, p. 485–492, 2002.

ROULLIER, C.; KAMBOUO, R.; PAOFA, J.; MCKEY, D.; LEBOT, V. On the origin of sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] genetic diversity in New Guinea, a secondary centre of diversity. **Heredity**, Edinburgh, v. 110, n. 6, p. 594–604, 2013.

SCOTT, J.; KNOTT, M.A. Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v. 30, n. 3, p. 507–512, 1974.

SILVA, A.R. **Biotoools**: tools for biometry and applied statistics in agricultural science. Disponível em: <<http://CRAN.R-project.org/package=biotoools>> Acesso em: 18 fevereiro de 2016.

SILVA, G.O. da; PONIJALEKI, R.; SUINAGA, F. A. Divergência genética entre acessos de batata-doce utilizando caracteres fenotípicos de raiz. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 1988, p. 595–599, 2012.

SILVA, J.B.C. da; LOPES, C.A.; MIRANDA, J.E.C. de; FRANCA, F.H.; CARRIJO, O.A.; SOUZA, A.F.; PEREIRA, W. **Cultivo da batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam)**. 3. ed. Brasília: EMBRAPA, CNPH, 1995. 18 p.

SOLANKEY, S.S.; SINGH, P.K.; SINGH, R.K. Genetic diversity and interrelationship of qualitative and quantitative traits in sweet potato. **International Journal of Vegetable Science**, New York, v. 21, n. 3, p. 236–248, 2015.

STRAUSS, M.S.; PINO, J.A.; COHEN, J.I. Quantification of diversity in ex-situ plant collections. **Diversity**, Bethesda, v. 16, p. 30–32, 1989.

TAIRO, F.; MNENEY, E.; KULLAYA, A. Morphological and agronomical characterization of sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] germplasm collection from Tanzania. **African Journal of Plant Science**, Cameroon, v. 2, n. 8, p. 77–85, 2008.

TAYLOR, M.; HUNTER, D.; RAO, V.R.; JACKSON, G.V.H.; SIVAN, P. Taro collecting and conservation in the Pacific region. In: RAO, V.R.; PETTER, M.J.; EYZAGUIRRE, P.J.;

HUNTER, D. (Ed.). **The global diversity of Taro: ethno-botany and conservation**. Rome: Bioversity International, 2010. chap. 13, p.150-167.

TSEGAYE, E.; DECHASSA, N.; SASTRY, E.D. Genetic variability for yield and other agronomic traits in sweet potato. **Journal of Agronomy**, Pakistan, v. 6, n. 1, p. 94-99, 2007.

VEASEY, E.A.; BORGES, A.; ROSA, M.S.; QUEIROZ-SILVA, J.R.; BRESSAN, E.A.; PERONI, N. Genetic diversity in Brazilian sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam., Solanales, Convolvulaceae) landraces assessed with microsatellite markers. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 31, n. 3, p. 725–733, 2008.

VEASEY, E.A.; SILVA, J.R.D.Q.; ROSA, M.S.; BORGES, A.; BRESSAN, E.D.A.; PERONI, N. Phenology and morphological diversity of sweet potato (*Ipomoea batatas*) landraces of the Vale do Ribeira. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 64, n. 4, p. 416–427, 2007.

YADA, B.; TUKAMUHABWA, P.; ALAJO, A.; MWANGA, R.O.M. Morphological characterization of Ugandan sweet potato germplasm. **Crop Science**, Madison, v. 50, n. 6, p. 2364, 2010a.

YADA, B.; TUKAMUHABWA, P.; WANJALA, B.; KIM, D. J.; SKILTON, R. A.; ALAJO, A.; MWANGA, R.O.M. Characterization of Ugandan sweet potato germplasm using fluorescent labeled simple sequence repeat markers. **HortScience**, Alexandria, v. 45, n. 2, p. 225–230, 2010b.

ZAWEDDE, B.M.; GHISLAIN, M.; MAGEMBE, E.; AMARO, G.B.; GRUMET, R.; HANCOCK, J. Characterization of the genetic diversity of Uganda's sweet potato (*Ipomoea batatas*) germplasm using microsatellites markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 62, n. 4, p. 501–513, 2015.

ZHANG, D.; GHISLAIN, M.; HUAMAN, Z.; GOLMIRZAIE, A.; HIJMANS, R. RAPD variation in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) cultivars from South America and Papua New Guinea. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 45, p. 271–277, 1998.

ZHANG, K.; WU, Z.; LI, Y.; ZHANG, H.; WANG, L.; ZHOU, Q.; TANG, D.; FU, Y.; HE, F.; JIANG, Y.; YANG, H.; WANG, J. ISSR-based molecular characterization of an elite germplasm collection of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) in China. **Journal of Integrative Agriculture**, Tokyo, v. 13, n. 11, p. 2346–2361, 2014.

3 UTILIZAÇÃO DA MORFOMETRIA GEOMÉTRICA NA CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA EM GERMOPLASMA DE BATATA-DOCE [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.]

Resumo

A identificação de acessos em bancos de germoplasma é muito útil para evitar a presença de duplicatas, na identificação de potenciais genitores e na conservação da agrobiodiversidade. Como o limbo foliar, em batata-doce, pode exibir formatos bastante variáveis entre genótipos, objetivou-se neste estudo avaliar o potencial da morfometria geométrica na análise da diversidade genética, por meio do contorno das folhas. A técnica da Análise Elíptica de Fourier (AEF) foi empregada para avaliar 80 acessos de batata-doce presentes na coleção de trabalho do Laboratório de Evolução do Depto. de Genética, Esalq/USP. Um total de 1.437 folhas coletadas em campo experimental foram digitalizadas e, com auxílio de um programa computacional, delas foram extraídos um código em cadeia e funções harmônicas de Fourier. Foram selecionados os seis primeiros componentes principais obtidos dos coeficientes de Fourier e utilizados como variáveis de forma, para descrever o contorno do limbo foliar na espécie. A reificação do contorno foliar, utilizando a função inversa de Fourier, demonstrou que o Primeiro Componente Principal (CP1) descreveu as variações quanto ao índice de lobação/angulação apical do limbo, e o Segundo (CP2), as diferenças na profundidade do seio peciolar. A análise multivariada de variância (MANOVA) revelou diferenças significativas entre os acessos avaliados, indicando a presença de variabilidade genética. O método UPGMA, com base na distância Euclidiana de dissimilaridade, demonstrou a existência de três grandes grupos, sendo representados por folhas cordiformes, com três lóbulos e com cinco ou mais lóbulos. A distribuição dos escores obtidos para o CP1 e CP2 parece indicar que o controle genético dos caracteres associados a estes componentes está relacionado a uma herança qualitativa e quantitativa, respectivamente. Este estudo mostrou que a AEF foi eficiente na captura da variação na forma de folhas na espécie, podendo ser utilizada como ferramenta adicional para estimar a diversidade genética.

Palavras-chave: Análise elíptica de Fourier; Banco de germoplasma; Folhas; Roças; Variação da forma

Abstract

The identification of accessions in genebanks is very useful to avoid the presence of duplicates, to identify potential parents and for the conservation of agricultural biodiversity. As the leaf blade in sweet potatoes can display shapes quite variable among genotypes, the aim in this study was to evaluate the potential of geometric morphometric analysis of the genetic diversity through the contour of the leaves. The technique of elliptic Fourier analysis (EFA) was used to evaluate 80 sweet potato accessions present in the collection work of the Evolution Laboratory, Esalq/USP. A total of 1,437 leaves collected in the experimental field were digitized and, with the aid of a computer program, a code chain and Fourier harmonic functions were extracted from the images. We selected the first six principal components obtained from Fourier coefficients and used them as shape variables to describe the outline of the leaf blade in the accessions. The reification of the leaf contour, using the inverse function of Fourier showed that the first principal component (PC1) described the variations in the lobation index/apical angulation of the blade, and the second (CP2), the differences in the depth of the petiole sinus. Multivariate analysis of variance (MANOVA) revealed significant

differences among accessions, indicating the presence of genetic variability. The UPGMA method, based on Euclidean distance dissimilarity, demonstrated the existence of three main groups, being represented by cordiform leaves, leaves with three lobes and leaves with five or more lobes. The distribution of scores for CP1 and CP2 seems to indicate that the genetic control of traits associated with these components is related to a qualitative and quantitative inheritance, respectively. This study showed that the AEF was efficient in capturing the variation in leaf form in the species, and may be used as an additional tool to estimate genetic diversity.

Keywords: Elliptical Fourier analysis; Germplasm bank; Leaves; Shape variation; Swidden cultivation;

3.1 Introdução

A batata-doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] originou-se no continente americano e é uma das culturas alimentares mais importantes do mundo, pois apresenta elevados níveis de carboidratos, proteínas, fibras dietéticas, minerais (Ca, K, Fe) e vitaminas (A₁, B₂, C e E) (KIM et al., 2012; SUN et al., 2016). Diferentemente de outras culturas, como o milho e o trigo, a batata-doce não sofreu um efeito tão drástico de gargalo de garrafa durante o processo de domesticação, tendo provavelmente retido grande parte da diversidade genética das populações ancestrais selvagens (ROULLIER et al., 2013a).

A mutação somática acoplada à reprodução vegetativa, frequente em condições agrícolas, a herança epigenética e a reprodução sexual, que nunca deixou de agir podem ter contribuído para a ampliação da diversidade nesta cultura (MCKEY et al., 2010). Estas fontes de variação proporcionaram a seleção de determinadas variedades pelos agricultores que as mantêm e multiplicam pela propagação clonal (ROULLIER et al., 2013b). Desta forma, a seleção praticada pelo homem, bem como outros processos evolutivos podem ter resultado na grande variação de folhas e raízes tuberosas encontradas nos genótipos de batata-doce. Estratégias de conservação destas variedades tradicionais são importantes, uma vez que constituem um verdadeiro *pool* gênico para caracteres de interesse, especialmente quando se pensa em possíveis alterações climáticas.

A conservação *ex situ* para espécies de propagação vegetativa é um processo mais oneroso, haja vista a necessidade de manter os genótipos em campo (MAXTED et al., 2002), além de ser considerada estática, por evitar as mudanças evolutivas (WOOD; LENNE, 1997). Ao contrário da conservação *in situ*, praticada pelos agricultores em suas roças e quintais, que é dinâmica, com a cultura se adaptando às mudanças das condições ambientais (BELLON; GOTOR; CARACCILO, 2015). Diferentemente da estratégia de conservação a ser adotada é imprescindível o reconhecimento da diversidade genética existente, seja para eliminar

duplicatas em bancos de germoplasma (*ex situ*) ou evitar perda de genótipos importantes pela erosão genética (*in situ*).

Nos últimos anos, diversos estudos têm avaliado a diversidade genética de batata-doce utilizando-se marcadores moleculares (LIU et al., 2012; MAQUIA et al., 2013; MOULIN et al., 2012; ZAWEDDE et al., 2015) e marcadores morfoagronômicos (SILVA; PONIJALEKI; SUINAGA, 2012; AZEVEDO et al., 2015; CARMONA et al., 2015), porém são escassos na literatura trabalhos que envolvam análises morfométricas de folhas com este propósito nesta cultura.

Vários métodos para a avaliação quantitativa da forma têm sido sugeridos para a caracterização de órgãos e detalhes anatômicos; dentre eles, o mais utilizado é a análise elíptica de Fourier. Segundo Rohlf e Archie (1984) a forma é descrita matematicamente pela transformação das informações das coordenadas relativas ao contorno em coeficientes de Fourier. Este método tem sido aplicado com sucesso em folhas (MCLELLAN; ENDLER, 1998; ANDRADE et al., 2008, 2010; SOARES et al., 2011; MIROUZE; STAQUET; VEZY, 2012; CARDOZO et al., 2014), frutos (GOTO et al., 2005; MENESATTI et al., 2008), raízes (IWATA et al., 1998b) e flores (YOSHIOKA et al., 2004). Assim, objetivou-se neste trabalho avaliar o potencial e a eficácia da utilização da análise elíptica de Fourier, em folhas, na discriminação da diversidade genética de 80 variedades tradicionais coletadas no litoral Norte e do Vale do Ribeira, São Paulo.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Material vegetal e amostragem

Um total de 80 acessos de batata-doce (Tabela 3.1), da coleção de trabalho do Laboratório de Evolução, Depto. de Genética, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (Universidade de São Paulo) – Esalq/USP, em Piracicaba-SP, foram utilizadas para as avaliações morfométricas. 71 acessos foram obtidos em coletas *ad hoc* realizadas em 2012-2013, sendo 45 do Litoral Sul do Estado de São Paulo, região do Vale do Ribeira, que corresponde à Região Agrícola de Registro, e 26 são do Litoral Norte do Estado de São Paulo, que corresponde à Região Agrícola de Pindamonhangaba. Os restantes oito acessos são provenientes de plantações de Piracicaba-SP e de um banco de germoplasma mais antigo, coletado também em roças do Vale do Ribeira.

Para as análises morfométricas das folhas, os 80 acessos foram plantados no campo experimental do Departamento de Genética da Esalq/USP, utilizando-se o delineamento em

blocos casualizados, com três repetições. Para a implantação do experimento, foram utilizadas estacas vegetativas uniformes, coletadas na coleção de trabalho. A parcela experimental foi constituída com 15 plantas e com espaçamento de 0,3 metros entre elas, totalizando uma área de 13,75 m².

Um total de 2.400 folhas foram coletadas de ramas diferentes das plantas centrais de cada parcela. No entanto, em virtude de alguns ruídos nas imagens, apenas 1.437 folhas foram utilizadas nas análises subsequentes (Figura 3.1, Tabela 3.1).

Tabela 3.1 – Relação dos 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho do Laboratório de Evolução do Depto. de Genética, Esalq/USP que foram avaliados (2013-2014), com as respectivas informações do município e da comunidade de coleta e do número de folhas amostradas. Piracicaba-SP

(continua)

Acessos	Município	Comunidade	Nº de folhas amostradas
IG_1	Iguape	Icapara	15
IG_2	Iguape	Icapara	14
IG_3	Iguape	Pontal do Icapara	37
IG_4	Iguape	Pontal do Icapara	28
IG_5	Iguape	Pontal do Icapara	18
IG_6	Iguape	Bussununga	19
IG_7	Iguape	Centro	17
IG_8	Iguape	Momuna	15
IG_9	Iguape	Momuna	12
IG_10	Iguape	Momuna	15
IG_11	Iguape	Momuna	14
IG_12	Iguape	Momuna	14
IG_13	Iguape	Momuna	19
IG_14	Iguape	Pedreões	15
IG_15	Iguape	Pedreões	20
IG_16	Iguape	Pedreões	13
IG_17	Iguape	Pedreões	19
IG_18	Iguape	Pedreões	20
IG_19	Iguape	Pedreões	12
IG_20	Iguape	Pedreões	14
IG_21	Iguape	Cavalcanti	14
IG_22	Iguape	Centro	17
IG_23	Iguape	Centro	13
IG_24	Iguape	Centro	21
IG_25	Iguape	Costão do Engenho	15
IC_26	Ilha Comprida	Pedrinhas	14
IC_27	Ilha Comprida	Pedrinhas	18
IC_28	Ilha Comprida	Pedrinhas	16
IC_29	Ilha Comprida	Pedrinhas	16

Tabela 3.1 – Relação dos 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho do Laboratório de Evolução do Depto. de Genética, Esalq/USP que foram avaliados (2013-2014), com as respectivas informações do município e da comunidade de coleta e do número de folhas amostradas. Piracicaba-SP

(continuação)

Acessos	Município	Comunidade	Nº de folhas amostradas
IC_30	Ilha Comprida	Pedrinhas	4
IC_31	Ilha Comprida	Pedrinhas	37
IC_32	Ilha Comprida	Pedrinhas	34
CA_33	Cananéia	Santa Maria	29
CA_34	Cananéia	Santa Maria	29
CA_35	Cananéia	Santa Maria	37
CA_36	Cananéia	Santa Maria	38
CA_37	Cananéia	Santa Maria	34
CA_38	Cananéia	Santa Maria	26
CA_39	Cananéia	Porto do Meio	29
CA_40	Cananéia	Porto do Meio	23
CA_41	Cananéia	Rio Branco	25
CA_42	Cananéia	Rio Branco	15
CA_43	Cananéia	Rio Branco	37
CA_44	Cananéia	Rio Branco	28
CA_45	Cananéia	Rio Branco	16
BG_47	BAG antigo	Sem identificação	19
BG_48	BAG antigo	Sem identificação	11
BG_49	BAG antigo	Sem identificação	15
BG_50	BAG antigo	Sem identificação	15
UB_51	Ubatuba	Mato Dentro	6
UB_52	Ubatuba	Mato Dentro	13
UB_53	Ubatuba	Mato Dentro	19
UB_54	Ubatuba	Mato Dentro	20
UB_55	Ubatuba	Rio Escuro	13
UB_56	Ubatuba	Rio Escuro	15
UB_57	Ubatuba	Taquaral	11
UB_58	Ubatuba	Taquaral	8
UB_59	Ubatuba	Taquaral	13
UB_60	Ubatuba	Taquaral	18
UB_61	Ubatuba	Aldeia Boa Vista	9
UB_62	Ubatuba	Aldeia Boa Vista	17
UB_63	Ubatuba	Aldeia Boa Vista	15
UB_64	Ubatuba	Aldeia Boa Vista	12
UB_65	Ubatuba	Aldeia Boa Vista	20
UB_66	Ubatuba	Sertão do Ubatumirim	11
UB_67	Ubatuba	Sertão do Ubatumirim	12
UB_68	Ubatuba	Sertão do Ubatumirim	15
UB_69	Ubatuba	Quilombo do Camburí	5
UB_70	Ubatuba	Araribá	8
CG_71	Caraguatatuba	Getuba	17
CG_72	Caraguatatuba	Getuba	20
CG_73	Caraguatatuba	Getuba	20

Tabela 3.1 – Relação dos 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho do Laboratório de Evolução do Depto. de Genética, Esalq/USP que foram avaliados (2013-2014), com as respectivas informações do município e da comunidade de coleta e do número de folhas amostradas. Piracicaba-SP.

(conclusão)

Acessos	Município	Comunidade	Nº de folhas amostradas
CG_74	Caraguatatuba	Costa Branca	15
UB_75	Ubatuba	Feira	17
UB_76	Ubatuba	Feirinha	15
PI_77	Piracicaba	Jiboia	14
PI_78	Piracicaba	Jiboia	18
PI_79	Piracicaba	Jiboia	18
BG_80	BAG antigo	Sem identificação	14

Figura 3.1 – Exemplos da diversidade de folhas encontradas nos 80 acessos de batata-doce da Coleção de Trabalho do Laboratório de Evolução, Depto. de Genética, Esalq/USP (Coletas em 2013-2014)

3.2.2 Aquisição, processamento e binarização das imagens

As imagens coloridas do contorno da superfície adaxial das folhas foram capturadas com um *scanner* de mesa (*HP Scanjet 300 Flatbed Photo Scanner*) com uma resolução de 4800 dpi. Devido às exigências do pacote computacional, todas as imagens foram salvas no formato bitmap (*.bmp). O aplicativo *ChainCoder* integrante do *software* SHAPE (IWATA; UKAI, 2002) foi utilizado para a obtenção dos códigos em cadeia (Figura 3.2).

Figura 3.2 – Série de etapas no processamento de imagens para obtenção dos contornos fechados das folhas, utilizando-se o aplicativo *ChainCoder* do *software* SHAPE. (a) Imagem digital de uma folha carregada no aplicativo (b) Imagem transformada em escala cinza. c) Imagem binária

O contorno fechado das folhas foi obtido a partir de imagens binárias. Estes contornos foram transformados em códigos em cadeia, conforme metodologia proposta por Kuhl e Giardina (1982). Cada código em cadeia é representado como uma unidade de comprimento e codificação direcional, como mostrado na Figura 3.3. Os *pixels* do contorno de folhas individuais foram utilizados para descrever o código em cadeia, iniciando com um dado ponto de referência e tracejando o contorno no sentido horário.

Figura 3.3 – Obtenção dos códigos em cadeia a partir da imagem binária. (a) Pontos do código em cadeia e folha simples sendo codificada. (b) Sequência de um código em cadeia iniciando no ápice da folha

3.2.3 Descritores elípticos de Fourier

Com o auxílio do aplicativo *Chc2Nef* do *software* SHAPE, utilizou-se o código em cadeia gerado pelo *ChainCoder* e obteve-se uma expansão da série de Fourier do contorno fechado, que é uma projeção sobre os eixos x e y , conforme as eq. (1) e (2), respectivamente:

$$x_{N(t)} = A_0 + \sum_{n=1}^N a_n \cos\left(\frac{2n\pi t}{T}\right) + b_n \sin\left(\frac{2n\pi t}{T}\right) \quad (1)$$

$$y_{N(t)} = C_0 + \sum_{n=1}^N c_n \cos\left(\frac{2n\pi t}{T}\right) + d_n \sin\left(\frac{2n\pi t}{T}\right) \quad (2)$$

em que:

t é uma etapa necessária para atravessar 1 pixel ao longo do contorno fechado, tanto que $t_{p-1} < t < t_p$ para os valores de código p , dentro do intervalo $1 \leq p \leq k$ e k é o número total de códigos que descrevem o contorno;

- n é o número de harmônicas de Fourier necessário para gerar a aproximação ao contorno. Cada harmônica tem quatro coeficientes, a_n , b_n , c_n e d_n , como definidos nas eq. (3), (4), (5) e (6), respectivamente;

$$a_n = \frac{T}{2n^2\pi^2} \sum_{p=1}^K \frac{\Delta x_p}{\Delta t_p} \left[\cos\left(\frac{2n\pi t_p}{T}\right) - \cos\left(\frac{2n\pi t_{p-1}}{T}\right) \right] \quad (3)$$

$$b_n = \frac{T}{2n^2\pi^2} \sum_{p=1}^K \frac{\Delta x_p}{\Delta t_p} \left[\sin\left(\frac{2n\pi t_p}{T}\right) - \sin\left(\frac{2n\pi t_{p-1}}{T}\right) \right] \quad (4)$$

$$c_n = \frac{T}{2n^2\pi^2} \sum_{p=1}^K \frac{\Delta y_p}{\Delta t_p} \left[\cos\left(\frac{2n\pi t_p}{T}\right) - \cos\left(\frac{2n\pi t_{p-1}}{T}\right) \right] \quad (5)$$

$$d_n = \frac{T}{2n^2\pi^2} \sum_{p=1}^K \frac{\Delta y_p}{\Delta t_p} \left[\sin\left(\frac{2n\pi t_p}{T}\right) - \sin\left(\frac{2n\pi t_{p-1}}{T}\right) \right] \quad (6)$$

em que t_p é o número de etapas necessárias para atravessar o primeiro componente p ou cada ponto do código em cadeia. Δx_p e Δy_p são as mudanças espaciais nas projeções x e y , respectivamente, na ligação p . Estes valores podem ser 1, 0 ou -1 dependendo da orientação da ligação p . Δt_p é a mudança de etapa necessária para atravessar a ligação p de um código em cadeia.

- T é um período básico do código em cadeia, ou a soma das etapas necessárias para atravessar um contorno inteiro, $T = t_k$;
- A_0 e C_0 são coeficientes viesados relacionados com a tradução da imagem e correspondem a uma frequência de 0 (CAMARGO NETO, 2006);

- N é o número total de harmônicas elípticas de Fourier necessário para gerar uma aproximação acurada do contorno.

A Figura 3.4 mostra o aplicativo *Ch2Nef* realizando a aproximação elíptica de Fourier normalizada do contorno original da folha utilizando os coeficientes a_n , b_n , c_n e d_n gerados com as quatro primeiras harmônicas. À medida que se aumenta o número de harmônicas, a forma vai progressivamente assemelhando-se ao contorno do objeto original (KUHL; GIARDINA, 1982).

Figura 3.4 – Aproximação da forma original de folhas de *Ipomoea batatas*, por meio das harmônicas da análise elíptica de Fourier. Quatro primeiras harmônicas (roxo) circundando a folha original (verde)

3.2.4 Análises estatísticas

A análise elíptica de Fourier foi o método de morfometria geométrica escolhido neste estudo, uma vez que é bem adequado para a análise de folhas, especialmente porque os pontos de referência homólogos, que não são facilmente encontrados em folhas (COPE et al., 2012), não são necessários, e os contornos podem capturar uma grande parte do caráter bidimensional das folhas (ELEWA, 2010).

Os coeficientes elípticos de Fourier normalizados foram gerados para as 20 primeiras harmônicas para todas as folhas amostradas. Os três primeiros coeficientes foram descartados, pois eles correspondem a pontos iniciais arbitrários da sequência tracejada do contorno ao invés de qualquer forma da folha. Desta forma, 77 ($4 \times 20 - 3$) coeficientes elípticos de Fourier normalizados foram derivados da forma do contorno da folha.

Com o auxílio do aplicativo computacional *PrinComp* do programa SHAPE, uma análise de componentes principais (ACP) foi realizada sobre a matriz de variância-covariância dos coeficientes elípticos de Fourier normalizados. A ACP foi utilizada para reduzir a dimensionalidade dos dados para um pequeno número de variáveis de descritores de forma

não correlacionados. Em seguida, foram selecionados os *scores* dos seis primeiros componentes principais para serem tratados como variáveis nas análises seguintes.

A variação na forma do limbo foliar foi avaliada pelo método de transformação inversa de Fourier, utilizando-se o módulo *PrinPrint* do programa SHAPE. Este método consiste em reconstruir o contorno a partir dos escores de um determinado componente principal utilizando-se os coeficientes dos descritores da AEF calculados quanto à média e 2 vezes o desvio padrão positivo e negativo (IWATA et al., 1998).

Utilizando a matriz com os escores dos dez primeiros componentes principais, foi testada a existência de diferenças significativas entre os acessos, por meio de uma análise multivariada de variância (MANOVA) e, em seguida, estimou-se a variabilidade entre os acessos pela distância Euclidiana entre todos os pares de indivíduos. Estas análises foram realizadas utilizando o pacote computacional *adeget* (JOMBART, 2008) do programa *R* (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016).

3.3 Resultados e Discussão

A análise de componentes principais (ACP) mostrou que a variação na forma do limbo foliar resumiu-se aos seis primeiros componentes principais, levando-se em consideração um percentual acumulado da variância total $\geq 80\%$ (Figura 3.5). Este limiar de 80% foi escolhido com base em Johnson e Wichern (2007), que recomendam uma quantidade limitada de CP's que explicam uma maior parte da variância total das amostras a ser retida. Em um estudo do contorno de folhas em quatro espécies do gênero *Strychnos* os dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2) foram suficientes para explicar 92,74% da variação total (ADEBOWALE et al., 2012), mas nem sempre os caracteres são tão correlacionados assim, e frequentemente mais CP's são necessários.

Figura 3.5 – Proporção da variância acrescentada e variância acumulada dos componentes principais da análise de componentes principais (ACP) dos coeficientes dos descritores elípticos de Fourier para o contorno do limbo foliar em acessos de batata-doce da coleção de trabalho do Lab. de Evolução, da Esalq/USP. Piracicaba, 2013-2014

Uma das vantagens da análise elíptica de Fourier (AEF) é permitir a reconstrução dos contornos e de uma média para os acessos, utilizando a transformação inversa de Fourier (IWATA et al., 1998). Esta imagem do formato médio (Figura 3.6) pode ser útil para um banco de germoplasma, pois permite a descrição de caracteres relacionados à forma e auxilia na identificação de acessos quando apresentam erros de rotulagem (IWATA et al., 2010).

A Figura 3.6 ilustra a reconstrução do contorno foliar de duas variáveis de forma das folhas de batata-doce, por meio dos componentes principais. O CP1 conseguiu capturar as variações quanto ao índice de lobação/angulação apical do limbo, enquanto que o CP2 identificou a profundidade do seio peciolar. Baixos valores para o CP1 descreve um tipo de folha com um seio peciolar mais aberto e ponta da folha mais achatada (acesso CA_33), enquanto que altos valores para CP1 indica a presença de lóbulos na folha (acesso CA_39). Para o CP2, os baixos valores demonstram uma folha com um seio peciolar menos acentuado (acesso IC_26), ao passo que os altos valores descrevem uma ponta da folha afilada (acesso UB_65). Os demais componentes não foram apresentados, pois não exibiram variações que pudessem ser observadas visualmente entre os acessos avaliados.

Figura 3.6 – Reconstrução dos contornos do limbo foliar referentes à média e aos extremos do intervalo de $\pm 2s$ para o PC1 e o PC2 em 80 acessos de batata-doce da Coleção de Trabalho do Laboratório de Evolução, Depto. de Genética, Esalq/USP, por meio do método de transformação inversa de Fourier

Embora estas variações não fossem perceptíveis ao olho humano, a análise de variância, para os seis primeiros componentes principais, demonstrou existirem diferenças significativas entre os acessos para os demais componentes (Tabela 3.2).

Tabela 3.2 – Resumo da análise de variância para os seis primeiros componentes principais em 80 acessos de batata-doce da Coleção de Trabalho do Laboratório de Evolução, Depto. de Genética, Esalq/USP. Piracicaba-SP, coleta de 2013-2014

FV	GL	QM ($\times 10^9$)					
		CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CP6
Acessos	79	409,20***	109,00***	21,38***	19,39***	21,35***	13,45***
Resíduo	1357	1,92	6,66	3,39	2,26	1,55	1,59

***Significativo pelo teste F a 0,1% de probabilidade

Estas pequenas variações quantitativas que se apresentam quase sobrepostas nas imagens obtidas para os demais componentes principais (variáveis de forma), se forem herdáveis, podem ter consequências adaptativas para pressões de seleção sobre determinados órgãos (ADEBOWALE et al., 2012). Por exemplo, variações na curvatura da corola poderão apresentar o potencial para agir como guia mecânico na atração de mariposas para a polinização, contribuindo com o sucesso reprodutivo de uma determinada espécie de planta (CAMPOS; BRADSHAW; DANIEL, 2015).

Um gráfico de dispersão com informações dos 80 acessos avaliados, com base na média dos escores das amostragens para os dois primeiros componentes principais, ilustra a

correspondência entre os valores morfométricos multivariados e a aparência geral da folha (Figura 3.7). A partir deste gráfico, pode-se inferir que os acessos IG_17, IG_15 e IG_19 apresentaram o mesmo padrão foliar, com maior grau de lobação e seio peciolar mais aberto. Os acessos UB_59, CA_39, IG_31, IG_21, IG_22 e IG_8 exibiram limbos foliares com alto grau de lobação e seio peciolar menos acentuado. Os acessos, destacados na cor laranja, situados no primeiro quadrante apresentaram um seio peciolar mais aberto e ausência de lóbulos nas folhas, enquanto que, no terceiro quadrante, os acessos (em roxo) exibiram seio peciolar menos acentuado e sem lobação. A maioria dos acessos que contêm certo grau de lobação apresentaram valores positivos e altos para o CP1. Estas informações indicam que a variação na forma das folhas observada entre os acessos foi bem capturada pelos componentes principais da análise elíptica de Fourier.

Figura 3.7 – Gráfico de dispersão com os valores de média obtidos dos escores para o PC1 (39,77%) e PC2 (20,11 %) dos 80 acessos de batata-doce da Coleção de Trabalho do Laboratório de Evolução, Depto. de Genética Esalq/USP, Piracicaba, 2013-2014. Os acessos foram coloridos com base na similaridade encontrada na análise visual das folhas. A imagem da folha representa um caso típico do grupo

A análise multivariada de variância (MANOVA), realizada com base na matriz dos escores dos seis primeiros componentes principais, indicou a existência de diferenças significativas entre os 80 acessos avaliados (Tabela 3.3), demonstrando a existência de variabilidade genética. Soares et al. (2011), utilizando AEF, em folhas, para reconhecimento

de cinco espécies do gênero *Heteropsis* (Araceae), também encontraram diferenças significativas entre as amostras avaliadas.

Tabela 3.3 – Teste para significância das diferenças entre os 80 acessos de batata-doce da Coleção de Trabalho do Laboratório de Evolução, Depto. de Genética da Esalq/USP, com base no contorno do limbo foliar. Piracicaba-SP, 2013-2014

FV	GL	Pillai	Estatística F	GL Num.	GL Den.	Pr(>F)
Acessos	79	3,4307	8,9573	790	13550	<2,2E-016***
Resíduos	1357					

*** Significativo pelo teste F a 0.1% de probabilidade

Uma análise de grupo foi realizada para ilustrar melhor a eficácia da AEF em agrupar os acessos que compartilham similaridade nos contornos dos limbos foliares (Figura 3.8). A análise visual do dendrograma mostra claramente a formação de quatro grandes grupos. O grupo “A”, com cerca de 77,5% dos acessos, apresenta o limbo foliar cordiforme, sendo representado pelos subgrupos I, II, III e IV. Os grupos “B”, “C” e “D” apresentaram lobação nas folhas, sendo distintos pela quantidade de lóbulos presentes. O grupo “B” formado pelos subgrupos V e VI apresentaram folhas, em geral, com três lóbulos. O grupo “C” (subgrupo VII), folhas com cinco lóbulos bem evidentes e o grupo “D” (subgrupos VIII, IX e X), folhas com cinco a sete lóbulos.

O subgrupo I caracterizou-se por apresentar folhas com o seio peciolar profundo e uma ponta da folha mais afilada. Na formação do subgrupo II, a maioria dos acessos exibiu o seio peciolar um pouco mais raso. Porém, constata-se que os acessos IG_5 e UB_67 não foram agrupados corretamente pelo método da AEF, uma vez que apresentaram uma tendência em formar lóbulos nas folhas. Estes acessos poderiam ter sido agrupados com os acessos IG_13 e CA_37 (subgrupo III), que exibiram uma característica de transição de cordiforme para lobado no formato da folha. Uma possível explicação para este fato pode ser a plasticidade no desenvolvimento da forma da folha em alguns acessos, onde é possível se constatar que, ao longo da ontogenia, a folha forma lóbulos. O subgrupo IV apresentou o formato cordiforme, com seio peciolar profundo e ponta mais achatada. O acesso IC_28 (subgrupo V) diferenciou-se dos demais, por exibir um limbo foliar bem característico, lembrando o formato de uma estrela.

Figura 3.8 –

Dendrograma representativo da divergência genética entre 80 acessos de batata-doce, obtido pelo método UPGMA, utilizando-se a distância euclidiana como medida de dissimilaridade. Para obtenção destas medidas, utilizaram-se os escores dos seis primeiros componentes principais gerados pela AEF do contorno foliar. As folhas inseridas abaixo representam uma imagem representativa para cada acesso. Piracicaba, 2013-2014

O subgrupo VI caracterizou-se por compartilhar as características de seio peciolar raso, base larga e presença de lóbulos. Os acessos IG_15, IG_17 e IG_19 (subgrupo VII) exibiram lóbulos bem evidentes e seio peciolar mais profundo. O acesso IC_31 também apresentou uma característica única em relação aos demais acessos avaliados, que foi a presença de até sete lóbulos, em algumas folhas. Os subgrupos IX e X diferenciaram-se pelo grau de abertura do seio peciolar.

Vários autores têm obtido êxito com a aplicação da AEF à discriminação entre e dentro de espécies, utilizando-se do contorno de limbos foliares. Labokas (2013) aplicando a AEF na identificação da variação da forma em folhas de espécies de morango-silvestre, *Fragaria vesca* e *F. viridis*, revelou grupos compatíveis com o conhecimento prévio sobre as populações em foco. Uma comparação de diferentes estimativas obtidas por meio de dados moleculares (RAPD) e morfométricos (AEF) em espécies do gênero *Chaenomeles* encontrou que a AEF foi a melhor abordagem baseada em dados morfológicos na discriminação delas (RUMPUNENI; BARTISH, 2002). Por outro lado, houve limitações na utilização desta técnica na separação de duas espécies do gênero *Anthurium*, em que apenas os CP's com menor contribuição da variação total foram mais eficientes em detectar as variações sutis no contorno das folhas que pudessem discriminar as espécies (ANDRADE et al., 2010).

O reconhecimento dos mecanismos genéticos que controlam o desenvolvimento da forma nas folhas é de extrema importância, uma vez que estes podem impactar a formação de outros órgãos na planta (CHITWOOD et al., 2014). Por exemplo, o formato da folha em tomates tem impacto na eficiência fotossintética, podendo afetar os níveis de açúcares no fruto (CHITWOOD et al., 2013). Quanto à influência genética na variabilidade morfológica dos limbos foliares, sabe-se que o formato das folhas de batata-doce tem herdabilidade estimada em 60% (LEBOT, 2009) e que, de maneira geral nas angiospermas, tal formato costuma ser determinado por muitos genes, em diferentes estádios de desenvolvimento (NICOTRA et al., 2011).

Desta forma, com o intuito de averiguar o tipo de herança genética presente nos componentes avaliados (CP1 e CP2), procurou-se estabelecer a distribuição dos escores obtidos na ACP para cada um destes componentes (Figura 3.9).

Figura 3.9 – Histograma representando os escores dos descritores elípticos de Fourier obtidos para o PC1 (índice de lobação/angulação apical do limbo) e PC2 (profundidade do seio peciolar) avaliados em 80 acessos de batata-doce da Coleção de Trabalho do Laboratório de Evolução, Depto. de Genética da Esalq/USP. Piracicaba, 2013-2014

O CP1 (que se traduz como um índice de lobação/angulação apical do limbo) não segue uma distribuição normal, o que é característico da herança qualitativa, controlada por poucos genes. É interessante notar que, em outra espécie de *Ipomoea* estudada, identificou-se que o formato lobado ou cordiforme das folhas é qualitativo e determinado por um único *locus* mendeliano (CAMPITELLI et al., 2008). Por outro lado, o CP2 (que representa a profundidade do seio peciolar) tem uma distribuição mais próxima da normal, o que é observado na herança quantitativa, controlada por muitos genes e altamente influenciada pelo ambiente. No entanto, estudos de segregação são necessários para a confirmação destas hipóteses.

3.4 Conclusões

- * Existe variabilidade genética entre os acessos de batata-doce na Coleção de Trabalho do Laboratório de Evolução, Depto. de Genética
- * A análise elíptica de Fourier pode ser utilizada eficientemente na captura de informações sobre a variação na forma das folhas entre os acessos de batata-doce;
- * A morfometria geométrica constitui uma ferramenta adicional para estudos de diversidade genética baseados em caracteres morfológicos.

Referências

- ADEBOWALE, A.; NICHOLAS, A.; LAMB, J.; NAIDOO, Y. Elliptic Fourier analysis of leaf shape in southern African *Strychnos* section *Densiflorae* (Loganiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 170, n. 4, p. 542–553, 2012.
- ANDRADE, I.M.; MAYO, S.J.; KIRKUP, D.; VAN DEN BERG, C. Comparative morphology of populations of *Monstera Adans.* (Araceae) from natural forest fragments in Northeast Brazil using elliptic Fourier Analysis of leaf outlines. **Kew Bulletin**, London, v. 63,

n. 2, p. 193–211, 2008.

_____. Elliptic fourier analysis of leaf outline shape in forest fragment populations of *Anthurium sinuatum* and *A. pentaphyllum* (Araceae) from Northeast Brazil. **Kew Bulletin**, London, v. 65, n. 1, p. 3–20, 2010.

AZEVEDO, A.M.; ANDRADE JÚNIOR, V.C.; FIGUEIREDO, J.A.; PEDROSA, C.E.; VIANA, D.J.S.; LEMOS, V.T.; NEIVA, I.P. Divergência genética e importância de caracteres em genótipos de batata-doce visando a produção de silagem. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, Recife, v. 10, n. 3, p. 479–484, 2015.

BELLON, M.R.; GOTOR, E.; CARACCILO, F. Assessing the effectiveness of projects supporting on-farm conservation of native crops: Evidence from the high andes of South America. **World Development**, Oxford, v. 70, p. 162–176, 2015.

CAMPITELLI, B.E.; SIMONSEN, A.K.; RICO WOLF, A.; MANSON, J.S.; STINCHCOMBE, J.R. Leaf shape variation and herbivore consumption and performance: a case study with *Ipomoea hederacea* and three generalists. **Arthropod-Plant Interactions**, New York, v. 2, n. 1, p. 9–19, 2008.

CAMPOS, E.O.; BRADSHAW, H.D.; DANIEL, T.L. Shape matters: Corolla curvature improves nectar discovery in the hawkmoth *Manduca sexta*. **Functional Ecology**, Oxford, v. 29, n. 4, p. 462–468, 2015.

CARDOZO, A.P.; GODINHO TEMPONI, L.; MOREIRA DE ANDRADE, I.; MAYO, S.J.; DE CAMARGO SMIDT, E. A morphometric and taxonomic study of *Anthurium augustinum* complex (Araceae), endemic to the Brazilian Atlantic Forest. **Feddes Repertorium**, Berlin, v. 125, n. 1-2, p. 43–58, 2014.

CARMONA, P.A.O.; PEIXOTO, J.R.; AMARO, G.B.; MENDONÇA, M.A. Divergência genética entre acessos de batata-doce utilizando descritores morfoagronômicos das raízes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 2, p. 251–256, 2015.

CHITWOOD, D.H.; KUMAR, R.; HEADLAND, L.R.; RANJAN, A.; COVINGTON, M.F.; ICHIHASHI, Y.; FULOP, D.; JIMÉNEZ-GÓMEZ, J.M.; PENG, J.; MALOOF, J.N.; SINHA, N.R. A quantitative genetic basis for leaf morphology in a set of precisely defined tomato introgression lines. **The Plant cell**, Rockville, v. 25, n. 7, p. 2465–2481, 2013.

CHITWOOD, D.H.; RANJAN, A.; MARTINEZ, C.C.; HEADLAND, L.R.; THIEM, T.; KUMAR, R.; COVINGTON, M.F.; HATCHER, T.; NAYLOR, D.T.; ZIMMERMAN, S.; DOWNS, N.; RAYMUNDO, N.; BUCKLER, E.S.; MALOOF, J.N.; ARADHYA, M.; PRINS, B.; LI, L.; MYLES, S.; SINHA, N.R. A modern ampelography: a genetic basis for leaf shape and venation patterning in grape. **Plant Physiology**, Washington, v. 164, n. 1, p. 259–272, 2014.

COPE, J.S.; CORNEY, D.; CLARK, J.Y.; REMAGNINO, P.; WILKIN, P. Plant species identification using digital morphometrics: a review. **Expert Systems with Applications**, New York, v. 39, p. 7562–7573, Mar. 2012.

ELEWA, A.M.T. **Morphometrics for nonmorphometricans**. New York; Berlin;

Heidelberg: Springer-Verlag, 2010. 362 p.

GOTO, S.; IWATA, H.; SHIBANO, S.; OHYA, K.; SUZUKI, A.; OGAWA, H. Fruit shape variation in *Fraxinus mandshurica* var. japonica characterized using elliptic Fourier descriptors and the effect on flight duration. **Ecological Research**, Tsukuba, v. 20, n. 6, p. 733–738, 2005.

IWATA, H.; EBANA, K.; UGA, Y.; HAYASHI, T.; JANNINK, J.L. Genome-wide association study of grain shape variation among *Oryza sativa* L. germplasms based on elliptic Fourier analysis. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 25, n. 2, p. 203–215, 2010.

IWATA, H.; UKAI, Y. SHAPE: a computer program package for quantitative evaluation of biological shapes based on elliptic Fourier descriptors. **Journal of Heredity**, Cary, v. 93, n. 5, p. 384–385, 2002.

IWATA, H.; NIIKURA, S.; MATSSURA, S.; TAKANO, Y.; UKAIL, Y. Evaluation of variation of root shape of Japanese radish (*Raphanus sativus* L.) based on image analysis using elliptic Fourier descriptors. **Euphytica**, Wageningen, v. 102, p. 143–149, 1998a.

_____. Diallel analysis of root shape of Japanese radish (*Raphanus sativus* L.) based on elliptic Fourier descriptors. **Breeding Science**, Tokyo, v. 50, p. 73–80, 1998b.

JOHNSON, R.A.; WICHERN, D.W. **Applied multivariate statistical analysis**. 6th ed. Upper Saddle River: Pearson, 2007. 793p.

KIM, H.W.; KIM, J.B.; CHO, S M.; CHUNG, M.N.; LEE, Y M.; CHU, S.M.; CHE, J.H.; KIM, S.N.; KIM, S.Y.; CHO, Y.S.; KIM, J.H.; PARK, H.J.; LEE, D.J. Anthocyanin changes in the Korean purple-fleshed sweet potato, Shinzami, as affected by steaming and baking. **Food Chemistry**, London, v. 130, n. 4, p. 966–972, 2012.

KUHL, F.; GIARDINA, C. Elliptic Fourier features of a close contour. **Computer Graphics Image Processing**, New York, n. 18, p. 259–278, 1982.

LABOKAS, J. Quantitative evaluation of leaflet shape in *Fragaria vesca* and *F. viridis* using image analysis and elliptic Fourier descriptors. **Baltic Forest**. Lithuania, v. 19, n. 1, p. 22–30, 2013.

LEBOT, V. **Tropical root and tuber crops: cassava, sweet potato, yams and aroids**. Wallingford: CAB, 2009. 432p.

LIU, D.; ZHAO, N.; ZHAI, H.; YU, X.; JIE, Q.; WANG, L.; HE, S.; LIU, Q. AFLP Fingerprinting and genetic diversity of main sweetpotato varieties in China. **Journal of Integrative Agriculture**, Amsterdam, v. 11, n. 9, p. 1424–1433, 2012.

MAQUIA, I.; MUOCHA, I.; NAICO, A.; MARTINS, N.; GOUVEIA, M.; ANDRADE, I.; GOULAO, L. F.; RIBEIRO, A. I. Molecular, morphological and agronomic characterization of the sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) germplasm collection from Mozambique: genotype selection for drought prone regions. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 88, p. 142–151, 2013.

- MAXTED, N.; GUARINO, L.; MYER, L.; CHIWONA, E. A. Towards a methodology for on-farm conservation of plant genetic resources. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 49, n. 1, p. 31–46, 2002.
- MCKEY, D.; ELIAS, M.; PUJOL, M.E.; DUPUTIÉ, A. The evolutionary ecology of clonally propagated domesticated plants. **New Phytologist**, Cambridge, v. 186, n. 2, p. 318–332, 2010.
- MCLELLAN, T.; ENDLER, J.A. The relative success of some methods for measuring and describing the shape of complex objects. **Systematic Biology**, Washington, v. 47, n. 2, p. 264–281, 1998.
- MENESATTI, P.; COSTA, C.; PAGLIA, G.; PALLOTTINO, F.; D'ANDREA, S.; RIMATORI, V.; AGUZZI, J. Shape-based methodology for multivariate discrimination among Italian hazelnut cultivars. **Biosystems Engineering**, London, v. 101, n. 4, p. 417–424, 2008.
- MIROUZE, E.; STAQUET, A.; VEZY, R. Morphometric and morphological analyses of leaves in two species of Araceae: *Montrichardia linifera* and *Montrichardia arborescens* among different French Guiana populations. **Journal of Ecofog**, Paris, v. 3, p. 1–15, 2012.
- MOULIN, M.M.; RODRIGUES, R.; GONÇALVES, L.S.; SUDRÉ, C.P.; SANTOS, M.H. Dos; SILVA, J.R.P. Da. Collection and morphological characterization of sweet potato landraces in north of Rio de Janeiro state. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 286–292, 2012.
- NICOTRA, A.B.; LEIGH, A.; BOYCE, C.K.; JONES, C.S.; NIKLAS, K.J.; ROYER, D.L.; TSUKAYA, H. The evolution and functional significance of leaf shape in the angiosperms. **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 38, p. 535–552, 2011.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2016. Disponível em: <<http://www.r.org>>. Acesso em: 20 fev. 2016
- RITSCHER, P.S.; HUAMÁN, Z. Variabilidade morfológica da coleção de germoplasma de batata-doce da Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 4, p. 485–492, 2002.
- ROHLF, F.J.; ARCHIE, J.W. A comparison of Fourier methods for the description of wing shape in mosquitoes (Diptera: *Culicidae*). **Systematic Zoology**, Washington, v. 3, p. 302–317, 1984.
- ROULLIER, C.; KAMBOUO, R.; PAOFA, J.; MCKEY, D.; LEBOT, V. On the origin of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) genetic diversity in New Guinea, a secondary centre of diversity. **Heredity**, London, v. 110, n. 6, p. 594–604, 2013a.
- ROULLIER, C.; DUPUTIÉ, A.; WENNEKES, P.; BENOIT, L.; FERNÁNDEZ BRINGAS, V. M.; ROSSEL, G.; TAY, D.; MCKEY, D.; LEBOT, V. Disentangling the origins of cultivated sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). **PloS One**, San Francisco, v. 8, n. 5, p.

1-12, 2013b.

RUMPUNENI, K.; BARTISH, I.V. Comparison of differentiation estimates based on morphometric and molecular data, exemplified by various leaf shape descriptors and rapds in the genus chaenomeles. **Taxon**, Utrecht, v. 51, n. 1, p. 69–82, 2002.

SILVA, A.V.C. da; ANDRADE, L.N.T.; RABBANI, A.R.C.; NUNES, M.U.C.; PINHEIRO, L.R. Genetic diversity of sweet potato collection from Northeastern Brazil. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 13, n. 10, p. 1109–1116, 2014.

SILVA, G.O. da; PONIJALEKI, R.; SUINAGA, F. A. Divergência genética entre acessos de batata-doce utilizando caracteres fenotípicos de raiz. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 1988, p. 595–599, 2012.

SOARES, M.L.C.; MAYO, S.J.; GRIBEL, R.; KIRKUP, D. Elliptic Fourier Analysis of leaf outlines in five species of *Heteropsis* (Araceae) from the Reserva Florestal Adolpho Ducke, Manaus, Amazonas, Brazil. **Kew Bulletin**, London, v. 66, p. 463–470, 2011.

SUN, R.; GUO, T.; COBB, J.; WANG, Q.; ZHANG, B. Role of microRNAs during flower and storage root development in sweet potato. **Plant Molecular Biology Reporter**, Athens, v. 33, n. 6, p. 1731-1739, 2016.

WOOD, D.; LENNE, J.M. The conservation of agrobiodiversity on-farm: questioning the emerging paradigm. **Biodiversity and Conservation**, London, v. 6, n. 1, p. 109–129, 1997.

YOSHIOKA, Y.; IWATA, H.; OHSAWA, R.; NINOMIYA, S. Analysis of petal shape variation of *Primula sieboldii* by elliptic fourier descriptors and principal component analysis. **Annals of Botany**, London, v. 94, n. 5, p. 657–664, 2004.

ZAWEDDE, B.M.; GHISLAIN, M.; MAGEMBE, E.; AMARO, G.B.; GRUMET, R.; HANCOCK, J. Characterization of the genetic diversity of Uganda's sweet potato (*Ipomoea batatas*) germplasm using microsatellites markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 62, n. 4, p. 501–513, 2015.

4 ANÁLISE MULTIVARIADA DA DIVERSIDADE GENÉTICA EM ACESSOS DE BATATA-DOCE UTILIZANDO DESCRITORES RELACIONADOS A PRODUÇÃO DO BIOETANOL

Resumo

A batata-doce tem sido avaliada como uma cultura alternativa para a produção de bioetanol. Assim, objetivou-se avaliar a diversidade genética em 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho do Lab. de Evolução, Depto. de Genética, Esalq/USP e selecionar genótipos para utilização como progenitores em programas de melhoramento visando à produção de etanol. Avaliaram-se as seguintes características: teor de amido, produtividade ($t.ha^{-1}$), rendimento de amido, rendimento de etanol em litros por hectare ($L.ha^{-1}$) e rendimento de etanol em litros por tonelada ($L.t^{-1}$). Os resultados obtidos demonstram existir uma elevada variabilidade entre os acessos para todos os caracteres avaliados. A divergência genética entre os acessos estimada pelo método de agrupamento de Tocher, utilizando a distância de Mahalanobis como medida de dissimilaridade, possibilitou a formação de nove grupos. Os cruzamentos entre os acessos CA_37 x PI_79, UB_53 x PI_79 e UB_64 x PI_79 são os mais promissores na obtenção de genótipos superiores.

Palavras-chave: Amido; Biocombustível; Divergência genética; *Ipomoea batatas*

Abstract

The sweet potato has been assessed as an alternative crop for bioethanol production. The objective was to evaluate the genetic diversity of 80 sweet potato accessions of the work collection of the Evolution Lab, Genetics Department, Esalq/USP and select genotypes to be used as parents in breeding programs for the production of ethanol. The following characteristics were evaluated: starch content, yield ($t.ha^{-1}$), starch yield, ethanol yield in liters per hectare ($L.ha^{-1}$) and ethanol yield in liters per ton ($L.t^{-1}$). The results show there is high variability among accessions for all traits. Genetic divergence among accessions, estimated by the Tocher grouping method using the Mahalanobis distance as dissimilarity measure, allowed the formation of nine groups. Crosses between the CA_37 x PI_79, UB_53 x PI_79 e UB_64 x PI_79 accessions are promising for obtaining superior genotypes.

Keywords: Biofuel; *Ipomoea batatas*; Genetic divergence; Starch

4.1 Introdução

O elevado crescimento populacional e a industrialização, nas últimas décadas, têm forçado o aumento da demanda energética (BETIKU; TAIWO, 2015; MA et al., 2008). Em virtude deste cenário, uma alternativa viável tem sido a utilização do bioetanol, um recurso mais limpo e sustentável que os combustíveis fósseis, que minimiza os impactos da emissão de gases que provocam o efeito estufa (CAO et al., 2011). O bioetanol pode ser produzido

pela fermentação direta de açúcares ou pela hidrólise do amido e da celulose, em açúcares fermentescíveis (BALAT; BALAT, 2009).

Os Estados Unidos são o maior produtor de bioetanol do mundo, utilizando principalmente o milho como matéria-prima, seguido do Brasil com a cana-de-açúcar (MASSON et al., 2015; ZABED et al., 2016). Segundo dados da Renewable Fuels Association (2016), a produção mundial de bioetanol quase duplicou nos últimos anos, saltando dos 50 bilhões de litros, em 2007, para quase 97 bilhões, em 2015. Estes dados despertam o interesse da população, em virtude do uso de culturas alimentícias, tais como o milho e o trigo, para produção do bioetanol, causando um aumento nos preços dos alimentos e aumentando a fome no mundo (MONTEFUSCO et al., 2014). Neste contexto, em virtude da crescente demanda deste produto, fontes alternativas e não convencionais vêm sendo investigadas (MUSSATTO et al., 2010).

A cultura da batata-doce (*Ipomoea batatas*) apresenta-se como substrato promissor para a fermentação, uma vez que produz elevados teores de amido (DUVERNAY; CHINN; YENCHO, 2013; LEE et al., 2012). Além disso, podem-se aproveitar para a produção do bioetanol as raízes que sofreram danos na colheita, bem como aquelas impróprias para servir de alimento (DEWAN et al., 2013).

Vários estudos vêm sendo desenvolvidos para explorar o potencial de produção do bioetanol da cultura da batata-doce no Brasil (GONÇALVES NETO et al., 2011; MARTINS et al., 2012; SILVEIRA, 2008; TABORDA et al., 2015), na China (CAO et al., 2011; WANG et al., 2013), nos Estados Unidos (DUVERNAY; CHINN; YENCHO, 2013; SANTA-MARIA et al., 2011; ZISKA et al., 2009), no Uruguai (FERRARI; GUIGOU; LAREO, 2013; LAREO et al., 2013) e na Itália (MONTEFUSCO et al., 2014).

Alguns trabalhos apontam que variedades melhoradas de batata-doce podem apresentar uma produtividade de etanol entre 4.500 a 10.000 L.ha⁻¹, comparados com o milho e a mandioca, que variam apenas de 2.200 a 3.800 L.ha⁻¹ (DUVERNAY; CHINN; YENCHO, 2013; MONTEFUSCO et al., 2014; SILVEIRA, 2008; TABORDA et al., 2015; ZISKA et al., 2009). Aliado a este fato, a batata-doce é capaz de transformar solos marginais em verdadeiros campos energéticos, em virtude de seu elevado potencial produtivo e adaptabilidade a uma ampla gama de condições ambientais (WANG et al., 2011; MONTEFUSCO et al., 2014).

Durante o processo de seleção de cultivares de batata-doce sempre foram levadas em consideração características voltadas para o consumo humano, tornando-se necessários estudos que identifiquem genótipos com aptidão para outras finalidades (GONÇALVES

NETO et al., 2011). Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho estimar a diversidade genética em 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho do Lab. de Evolução, Depto. de Genética, Esalq/USP, a fim de que se possa viabilizar a obtenção das melhores combinações híbridas.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Material vegetal e delineamento experimental

O experimento foi realizado em campo experimental no Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - Esalq/USP, em Piracicaba, São Paulo, com coordenadas geográficas 22° 43’ 31” S de latitude e 47° 38’ 57” O de longitude e aproximadamente 550 metros de altitude.

Para avaliação da diversidade genética visando o potencial de etanol foram selecionados 80 acessos de batata-doce presentes na coleção de trabalho do Laboratório de Evolução, Departamento de Genética, Esalq/USP (Tabela 4.1). Antes da implantação do experimento, estacas vegetativas/mudas foram selecionadas dos acessos da coleção de trabalho plantada no campo. Para a avaliação do experimento, as mudas foram plantadas em leiras com 1,0 m de largura, distanciadas entre si por 2,0 m. O plantio foi realizado em agosto de 2012 e a colheita em fevereiro de 2013 (Figura 4.1).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com 80 tratamentos e três repetições. A parcela experimental foi composta de 15 plantas, espaçadas em 30 centímetros, totalizando uma área de 13,75 m². Os tratos culturais, adubação e o controle de pragas e doenças seguiram as recomendações de FILGUEIRA (2008) para a cultura da batata-doce.

Tabela 4.1 – Relação dos 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP avaliados, com as respectivas informações do município, comunidade, local de coleta (quintais) e cores da casca e da polpa das raízes tuberosas. Piracicaba-SP, 2013-2014

(continua)

Acessos	Município	Comunidade	Local de coleta	Cor da casca	Cor da polpa
IG_1	Iguape	Icapara	Q1	Roxa	Roxa
IG_2	Iguape	Icapara	Q1	Creme	Creme
IG_3	Iguape	Pontal do Icapara	Q2	Roxa	Roxa
IG_4	Iguape	Pontal do Icapara	Q3	Branca	Branca
IG_5	Iguape	Pontal do Icapara	Q3	Creme	Creme
IG_6	Iguape	Bussununga	Q4	Creme	Creme
IG_7	Iguape	Centro	Feira	Rosa	Creme
IG_8	Iguape	Momuna	Q5	Branca	Branca
IG_9	Iguape	Momuna	Q5	Salmão	Creme
IG_10	Iguape	Momuna	Q6	Branca	Branca
IG_11	Iguape	Momuna	Q6	Branca	Branca
IG_12	Iguape	Momuna	Q6	Branca	Branca
IG_13	Iguape	Momuna	Q6	Amarela	Amarela
IG_14	Iguape	Pedreões	Q7	Salmão	Creme
IG_15	Iguape	Pedreões	Q8	Salmão	Creme
IG_16	Iguape	Pedreões	Q9	Rosa escuro	Creme
IG_17	Iguape	Pedreões	Q9	Salmão	Creme
IG_18	Iguape	Pedreões	Q9	Rosa escuro	Creme
IG_19	Iguape	Pedreões	Q9	Salmão	Creme
IG_20	Iguape	Pedreões	Q9	Salmão	Creme
IG_21	Iguape	Cavalcanti	Q10	Rosa claro	Creme
IG_22	Iguape	Centro	Q11	Rosa escuro	Creme
IG_23	Iguape	Centro	Q11	Salmão	Creme
IG_24	Iguape	Centro	Q11	Rosa escuro	Creme
IG_25	Iguape	C.do Engenho	Q12	Rosa claro	Amarela
IC_26	Ilha Comprida	Pedrinhas	Q13	Amarela	Amarela
IC_27	Ilha Comprida	Pedrinhas	Q13	Amarela	Amarela
IC_28	Ilha Comprida	Pedrinhas	Q14	Rosa claro	Creme
IC_29	Ilha Comprida	Pedrinhas	Q14	Rosa escuro	Creme
IC_30	Ilha Comprida	Pedrinhas	Q14	Creme	Creme
IC_31	Ilha Comprida	Pedrinhas	Q14	Branca	Branca
IC_32	Ilha Comprida	Pedrinhas	Q14	Salmão	Creme
CA_33	Cananéia	Santa Maria	Q15	Rosa	Creme
CA_34	Cananéia	Santa Maria	Q16	Roxa	Roxa
CA_35	Cananéia	Santa Maria	Q16	Roxa	Roxa
CA_36	Cananéia	Santa Maria	Q17	Roxa	Roxa
CA_37	Cananéia	Santa Maria	Q18	Branca	Branca
CA_38	Cananéia	Santa Maria	Q18	Rosa escuro	Creme
CA_39	Cananéia	Porto do Meio	Q19	Amarela	Branco
CA_40	Cananéia	Porto do Meio	Q19	Amarela	Creme
CA_41	Cananéia	Rio Branco	Q20	Amarela	Creme
CA_42	Cananéia	Rio Branco	Q20	Creme	Creme
CA_43	Cananéia	Rio Branco	Q20	Amarela	Creme
CA_44	Cananéia	Rio Branco	Q20	Rosa escuro	Creme
CA_45	Cananéia	Rio Branco	Q20	Roxa	Creme

Tabela 4.1 – Relação dos 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP avaliados, com as respectivas informações do município, comunidade, local de coleta (quintais) e cores da casca e da polpa das raízes tuberosas. Piracicaba-SP, 2013-2014

(conclusão)					
Acessos	Município	Comunidade	Local de coleta	Cor da casca	Cor da polpa
BG_46	BAG antigo	S/identificação		Amarela	Amarela
BG_47	BAG antigo	S/identificação		Rosa escuro	Creme
BG_48	BAG antigo	S/identificação		Amarela	Amarela
BG_49	BAG antigo	S/identificação		Amarela	Amarela
BG_50	BAG antigo	S/identificação		Amarela	Amarela
UB_51	Ubatuba	Mato Dentro	Q21	Branca	Branca
UB_52	Ubatuba	Mato Dentro	Q21	Roxa	Creme
UB_53	Ubatuba	Mato Dentro	Q22	Rosa escuro	Creme
UB_54	Ubatuba	Mato Dentro	Q22	Rosa	Creme
UB_55	Ubatuba	Rio escuro	Q23	Creme	Creme
UB_56	Ubatuba	Rio escuro	Q24	Branca	Branca
UB_57	Ubatuba	Taquaral	Q25	Rosa escuro	Creme
UB_58	Ubatuba	Taquaral	Q26	Rosa	Creme
UB_59	Ubatuba	Taquaral	Q26	Creme	Branca
UB_60	Ubatuba	Taquaral	Q26	Creme	Creme
UB_61	Ubatuba	Ald. Boa Vista	Q27	Roxa	Creme
UB_62	Ubatuba	Ald. Boa Vista	Q27	Rosa escuro	Creme
UB_63	Ubatuba	Ald. Boa Vista	Q28	Roxa	Roxa
UB_64	Ubatuba	Ald. Boa Vista	Q28	Rosa escuro	Creme
UB_65	Ubatuba	Ald. Boa Vista	Q28	Amarela	Creme
UB_66	Ubatuba	S. Ubatumirim	Q29	Rosa escuro	Creme
UB_67	Ubatuba	S. Ubatumirim	Q29	Rosa	Creme
UB_68	Ubatuba	S. Ubatumirim	Q30	Amarela	Amarela
UB_69	Ubatuba	Quil. Camburí	Q31	Rosa escuro	Creme
UB_70	Ubatuba	Araribá	Q32	Creme	Creme
CG_71	Caraguatatuba	Getuba	Estrada	Creme	Branca
CG_72	Caraguatatuba	Getuba	Q33	Creme	Branca
CG_73	Caraguatatuba	Getuba	Estrada	Rosa escuro	Creme
CG_74	Caraguatatuba	Costa Branca	Estrada	Creme	Creme
UB_75	Ubatuba	Centro	Feira	Branca	Branca
UB_76	Ubatuba	Centro	Feira	Amarela	Amarela
PI_77	Piracicaba	Jiboia		Rosa escuro	Creme
PI_78	Piracicaba	Jiboia		Roxa	Roxa
PI_79	Piracicaba	Jiboia		Creme	Creme
BG_80	BAG antigo	S/identificação		Creme	Branca

Figura 4.1 – Imagens do plantio experimental de batata-doce, em blocos casualizados, realizado em campo no Departamento de Genética da Esalq/USP. (a) e (b) Estacas vegetativas utilizadas no plantio; (c) Tratos culturais realizados 30 dias após o plantio; (d), (e) e (f) 2, 3 e 6 meses após o plantio, respectivamente

4.2.2 Variáveis avaliadas

I) Produtividade de raízes (PR)

A produtividade de raízes foi obtida em função da massa total de raízes colhidas por parcela (kg de raízes totais por parcela, em seguida transformados para $t.ha^{-1}$).

II) Teor de amido (TA)

Para a determinação do teor de amido (%) nas raízes frescas foram realizados os seguintes procedimentos:

a) Preparo do material para análise - após o plantio foi colhido aproximadamente 1 kg de raízes tuberosas, que, em seguida, foram lavadas, fatiadas e colocadas em bandejas para secar ao sol por oito horas, alternando as bandejas para homogeneidade. Depois de secas, as raízes tuberosas foram colocadas em papel *Kraft* e levadas para estufa de circulação e renovação de ar (impede a entrada de fungos, preservando o material) mantendo o material por 48 horas a $105^{\circ}C$. Em seguida, foram quebradas e passadas no moinho de facas (tipo *willey*), obtendo assim o material em forma de farinha. De cada acesso foram obtidos, em média, 300 gramas de farinha, que foram armazenados em potes plásticos, a fim de impedir a entrada de umidade no material.

b) Análise de teor de amido – a determinação do amido foi feita por meio de um *kit* enzimático (Megazyme K-TSTA 07/11), utilizando-se as 80 amostras das raízes tuberosas.

Inicialmente, foi analisado o teor de umidade de cada amostra e, com base no seu resultado foi pesada a quantidade faltante até completar 100 mg. Em seguida, a farinha foi transferida para tubos *falcon* e posteriormente foram adicionados 0,2 ml da solução de etanol (80%) para umedecer a amostra e ajudar na dispersão. Posteriormente, as amostras foram agitadas no vórtice e receberam 3 ml de α -amilase; em seguida, foram colocadas em banho-maria a 100° C, sendo agitadas a intervalos de 4, 8 e 12 minutos. Logo após, as amostras foram colocadas em banho-maria a 50° C, e receberam a adição de 0,1 ml da solução de amiloglucosidase (330U em amido). Os tubos foram agitados em vórtice e incubados a 50° C durante 30 minutos. Após este procedimento, o conteúdo de cada amostra foi transferido para um balão volumétrico de 100 ml, completando-se o volume final com água destilada. Em seguida, 10 ml do conteúdo de cada balão foram transferidos para o tubo *falcon* e centrifugados a 3.000 rpm durante 10 minutos. Depois da centrifugação, 0,1 ml da solução diluída de cada amostra foi transferido para um tubo de ensaio, onde receberam a adição de 3,0 ml do reagente GOPOD e foram incubados novamente em banho-maria a 50°C durante 20 minutos. Após essa etapa, foi realizada a leitura da absorbância em 510 nm.

c) Cálculo do teor de amido - o cálculo do teor de amido presente nos genótipos estudados foi feito com a eq. (1).

$$\text{Teor de amido (\%)} = \Delta a \times F \times 0,9 \quad (1)$$

Onde:

Δa = absorbância (reação) menos reagente branco;

$$F = \frac{100 \text{ (}\mu\text{g de D - glucose)}}{\text{absorb. de } 100 \mu\text{g de glicose}}$$

0,9 = Fator de correção de açúcar para amido;

III) Rendimento de amido (RA)

O rendimento de amido (t.ha^{-1}) foi determinado pelo produto do teor de amido (TA) e produtividade (PR).

IV) Rendimento de etanol em litros de álcool por hectare (RELH)

Para a determinação do rendimento potencial de etanol (L.ha^{-1}) calculou-se o produto entre o rendimento de amido (RA) e o fator de conversão 6,6, estimado empiricamente pela relação entre RELH e RA em experimentos de campo, conforme a eq. (2) (SILVEIRA, 2008).

$$\text{Fator de conversão} = \frac{RELH}{RA} = 6,6 \quad (2)$$

V) Rendimento de etanol em litros de álcool por tonelada (RELT)

Para a determinação do rendimento de etanol por tonelada de raízes ($L.t^{-1}$) calculou-se a razão entre o rendimento potencial de etanol em litros de álcool por hectare (RELH) e a produtividade (PR).

4.2.3 Análises estatísticas

Para as análises estatísticas, empregou-se a análise de componentes principais (ACP), os métodos de agrupamento de Tocher (RAO, 1952) e hierárquico UPGMA (*Unweighted pair group method using arithmetic averages*), ambos utilizando, como medida de dissimilaridade, a distância generalizada de Mahalanobis. Segundo Placide et al. (2015) a ACP reduz as variáveis originais a um conjunto de variáveis não correlacionadas, conhecidas como componentes principais (CP's). Esta análise permite a diferenciação visual entre os acessos e identificar possíveis associações entre os diferentes caracteres, por meio de um gráfico bidimensional. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o pacote computacional R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016).

4.3 Resultados e Discussão

As estimativas dos coeficientes de correlação genotípica e fenotípica para todos os pares de caracteres avaliados foram significativas (Tabela 4.1). Em termos de valores absolutos, constata-se que as correlações genotípicas foram superiores às fenotípicas. Evidenciando, desta forma, a tendência de uma maior contribuição dos fatores genéticos em relação aos ambientais.

Tabela 4.1 – Estimativas dos coeficientes de correlação fenotípica (abaixo da diagonal) e correlação genética (acima da diagonal) avaliados em 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho do Lab. de Evolução da Esalq/USP, com base nos caracteres para teor de amido (TA), produtividade (PR), rendimento de amido (RA), rendimento de etanol em $L.ha^{-1}$ (RELH) e rendimento de etanol em $L.t^{-1}$ (RELT). Piracicaba-SP, 2013-2014

Caracteres	TA	PR	RA	RELH	RELT
TA	1	0,1627*	0,4063*	0,4063*	1*
PR	0,1521*	1	0,9647*	0,9647*	0,1625*
RA	0,3865*	0,9671*	1	1*	0,4062*
RELH	0,3865*	0,9671*	1	1	0,4062*
RELT	1*	0,1518*	0,3863*	0,3863*	1

* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t de Student

Na seleção de genótipos superiores, uma estimativa de correlação genética positiva e alta pode ser bastante útil pela possibilidade de se obterem ganhos indiretos ao se selecionar um genótipo com base em um caráter que possua outro favoravelmente correlacionado (ARRIEL et al., 1999).

Neste estudo, os pares de caracteres teor de amido e rendimento de etanol em litros por tonelada, bem como rendimento de amido e rendimento de etanol em litros por hectare apresentaram correlações genótípicas e fenótípicas altas ($r = 1$) e positivas (Tabela 4.1). A produtividade também apresentou correlações genótípicas e fenótípicas altas com o rendimento de amido ($r = 0,96$) e rendimento de etanol em litros por hectare ($r = 0,96$). Gonçalves (2011), avaliando a variabilidade genética em acessos de batata-doce com potencial para produção de etanol, também encontrou estimativas de correlação elevadas para produtividade e rendimento de etanol em litros por hectare. Por outro lado, a produtividade apresentou estimativas de correlação baixas com o teor de amido ($r = 0,16$) e rendimento de etanol em litros por tonelada ($r = 0,16$), demonstrando que aquele caráter não é bom indicativo para o teor de amido presente nos tubérculos.

Desta forma, sugere-se que para estes pares de caracteres fortemente correlacionados deva existir um efeito pleiotrópico, ou seja, os genes que controlam um caráter podem ser os mesmos que controlam o outro, ou ainda, que sejam em parte controlados por genes presentes em um mesmo grupo de ligação. Parte da explicação pode ser também uma relação química, física ou fisiológica entre os caracteres em nível de fenótipo. Assim, com os resultados destas correlações, torna-se possível a aplicação da seleção indireta com base em um destes caracteres para seleção de genótipos com características que apresentem elevada produção de etanol. Além disso, em termos práticos, a avaliação pode ser realizada apenas no caráter de mais fácil determinação, reduzindo custos e tempo gasto com avaliação.

A existência de correlações altas e significativas entre os caracteres possibilita a aplicação da análise de componentes principais. Segundo Manly (2008), a eficiência desta nova descrição dos dados através dos componentes vai depender da porcentagem de variação total que cada componente contém, quando arranjados em ordem decrescente de variância.

Por meio da análise de componentes principais constata-se que os dois primeiros componentes explicaram 99,99 % da variação (Tabela 4.2).

Tabela 4.2 – Autovalores de cada componente principal e variância acumulada em relação à variância total, avaliados em 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP. Piracicaba-SP, 2013-2014

Componente	Variância	Variância (%)	Variância acumulada (%)
PC1	3,378	0,676	0,675609
PC2	1,618	0,324	0,999149
PC3	0,004	0,001	0,999999
PC4	0,000	0,000	1,000000
PC5	0,000	0,000	1,000000

A análise dos autovetores associados a cada componente principal indicou que os caracteres que mais contribuíram para formação do primeiro componente principal foram o teor de amido e o rendimento de etanol em litros por tonelada (Tabela 4.3). No segundo componente, destacaram-se o teor de amido e rendimento de etanol em litros por tonelada. No terceiro componente sobressaiu o caráter produtividade para variabilidade dos acessos. As porcentagens de explicação da variação nesse tipo de estudo costumam variar. Para Carmona et al. (2015), a análise de componentes principais revelou que os três primeiros componentes explicaram 86 % da variabilidade total existente, enquanto que, no estudo de Laurie et al. (2013), foram necessários os seis primeiros componentes principais para explicar 58% da variabilidade total.

Tabela 4.3 – Conjunto de autovetores associados aos caracteres e a cada componente principal, avaliados em 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP. Piracicaba-SP, 2013-2014

Caracteres*	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
TA	-0,3441	0,6090	0,1052	0,7069	-0,0001
PR	-0,4682	-0,3985	0,7887	-0,0020	0,0000
RA	-0,5215	-0,2229	-0,4223	0,0011	0,7071
RELH	-0,5215	-0,2229	-0,4222	0,0009	-0,7071
RELT	-0,3440	0,6091	0,1017	-0,7073	0,0001

*TA = teor de amido; PR = produtividade; RA = rendimento de amido; RELH = rendimento de etanol em litros por hectare; RELT = rendimento de etanol em litros por tonelada.

Na representação gráfica, contendo os dois primeiros componentes principais, é possível avaliar o comportamento dos acessos em relação aos caracteres avaliados para produção de etanol (Figura 4.2). Por meio deste gráfico, verifica-se que os acessos IG_26 e UB_63 encontram-se isolados em relação aos demais acessos avaliados e não estão associados diretamente a nenhum dos caracteres avaliados, apresentando os piores desempenhos para produção de etanol. Os acessos IG_4, IG_5 e UB_58 ficaram agrupados no

sentido do caráter produtividade, confirmando os valores altos encontrados para esta característica.

Constatou-se, ainda, pelo gráfico dos componentes principais (Figura 4.2) a formação de outros dois grupos, sendo um composto pelo acesso PI_79 e outro pelos acessos IG_4 e IG_5. O acesso PI_79 encontra-se associado diretamente aos caracteres para teor de amido e rendimento de etanol em litros por tonelada, enquanto que os acessos IG_4 e IG_5 estão localizados no sentido de crescimento de importância para os caracteres rendimento de amido e rendimento de etanol em litros por hectare. Assim, com base nestas informações, pode-se constatar que a análise de componentes principais é um método eficiente na classificação dos acessos, podendo auxiliar na seleção daqueles que reúnem as características agrônômicas desejáveis para um programa de melhoramento.

Figura 4.2 – Gráfico *biplot* dos dois primeiros componentes principais para os 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP em relação aos caracteres para teor de amido (TA), produtividade (PR), rendimento de amido (RA), rendimento de etanol em L.ha⁻¹ (RELH) e rendimento de etanol em L.t⁻¹ (RELT). Piracicaba-SP, 2013-2014

Com relação ao método de agrupamento entre os 80 acessos, pelo método de Tocher, a partir da distância generalizada de Mahalanobis, verificou-se a formação de nove grupos (Tabela 4.4).

O grupo I, formado pela maioria dos acessos (55%), é caracterizado por apresentar baixos valores para o teor de amido e rendimento de etanol em litros por tonelada, bem como

valores intermediários para os demais caracteres avaliados. A similaridade presente entre os acessos deste grupo poderá indicar que possíveis cruzamentos entre eles tendem a reduzir a obtenção de genótipos superiores.

No grupo II, foram incluídos 13 acessos (16,25%), reunidos por apresentarem valores intermediários para todos os caracteres avaliados. O grupo III foi formado por 11 (13,75%) acessos que se caracterizam por possuir elevados valores para produtividade, rendimento de amido e rendimento de etanol em litros por hectare, em contraste com baixos valores para os outros caracteres. No grupo IV encontram-se os acessos IG_13, UB_68, IG_9, UB_62, BG_50, UB_61 e BG_49, que apresentam, em comum, baixos valores para todas as características avaliadas. Os grupos V e VI foram formados por dois acessos e os demais grupos por um acesso cada.

A formação de todos estes grupos, com base nos caracteres avaliados visando à produção de etanol, evidencia a grande variabilidade presente na coleção de trabalho de batata-doce da Esalq/USP. De acordo com Martins et al. (2012), a visualização de grupos, entre os acessos de um banco de germoplasma, representa uma valiosa informação na identificação de progenitores que, quando cruzados, possibilitam o aparecimento de populações segregantes superiores, sendo de grande relevância para um programa de melhoramento genético.

Tabela 4.4 – Agrupamento dos 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP, pelo método de Tocher, com base na matriz de dissimilaridade dos caracteres quantitativos (teor de amido, produtividade, rendimento de amido, rendimento de etanol em L.ha⁻¹ e rendimento de etanol em L.t⁻¹). Piracicaba-SP, 2013-2014

Grupos	Acessos	Total
I	IG_15 UB_66 UB_67 UB_70 IG_25 CG_72 IG_20 IC_27 IG_3 CA_34 CA_42 IC_28 BG_46 IG_10 CA_43 IG_19 PI_77 CA_33 IG_1 IG_11 BG_47 PI_78 UB_54 CA_35 IG_23 UB_75 CA_41 UB_57 CG_71 CG_73 IC_32 CA_44 UB_51 UB_56 UB_52 IG_24 CA_38 UB_60 IG_4 BG_48 CG_74	42
II	IG_16 BG_80 IG_14 UB_65 CA_45 IG_2 CA_40 UB_53 UB_64 CA_37 IG_18 IG_6 IG_12	13
III	IC_30 UB_58 IG_8 IG_21 IG_22 IC_29 UB_59 UB_69 CA_39 IG_17 UB_55	11
IV	IG_13 UB_68 IG_9 UB_62 BG_50 UB_61 BG_49	7
V	IC_26 UB_63	2
VI	IC_31 UB_76	2
VII	IG_7	1
VIII	IG_36	1
IX	PI_79	1

O elevado nível de variabilidade genética entre os acessos da coleção da Esalq/USP, pode ser visualizado no dendrograma (Figura 4.3). O corte proposto com base nas

informações das médias dos genótipos revela a formação de sete grupos. A análise visual do dendrograma aponta que a maioria dos acessos ficou alocada em um mesmo grupo (V).

Figura 4.3 – Dendrograma obtido pelo método UPGMA, utilizando-se a distância de Mahalanobis, de 80 acessos de batata-doce da coleção de trabalho do Laboratório de Evolução da Esalq/USP, gerado a partir de avaliação de cinco caracteres quantitativos relacionados à produção de etanol. Piracicaba-SP, 2013-2014

Este grupo caracterizou-se por baixos teores de amido. Os grupos I e III compartilharam baixos valores para todos os caracteres avaliados. O grupo II caracterizou-se por apresentar elevada produtividade e rendimento de amido. O grupo IV, formado pelos acessos IC_31 e UB_76, destacou-se dos demais por possuírem valores intermediários para todos os caracteres avaliados.

O acesso PI_79, que apresentou elevado teor de amido e produtividade intermediária formou o grupo VI. Os acessos alocados no grupo VII caracterizaram-se por apresentar elevada produtividade e rendimento de etanol em litros por hectare, em contraste com valores intermediários para teores de amido.

Os pares de acessos CA_33 e CA_35, UB_51 e UB_52, IG_19 e IC_28, bem como IG_3 e IC_27 apresentaram elevada similaridade para os caracteres avaliados. Este resultado revela certa coincidência entre similaridade genética e origem geográfica, provavelmente em virtude da troca de mudas entre moradores da região. Carmona et al. (2015) e Oliveira et al. (2000) avaliando genótipos de batata-doce, também encontraram associação entre origem geográfica e similaridade genética, em acessos coletados em Brazlândia-DF e Viçosa-MG, respectivamente. Segundo Veasey et al. (2007), não existem regras claras de reciprocidade na troca de variedades de batata-doce entre os agricultores do Vale do Ribeira, sendo sua ocorrência em virtude da aquisição de novas variedades ou quando ocorrem perdas de colheita.

A ocorrência de acessos dentro de um mesmo grupo indica de que eventuais cruzamentos entre os mesmos não seriam efetivos na obtenção de variabilidade genética visando à produção de etanol. Para Carmona et al. (2015) e Martins et al. (2012) para que se possa obter sucesso em programas de melhoramento o ideal é selecionar progenitores contrastantes, ou seja, aqueles reunidos em grupos mais distantes e com médias elevadas para os caracteres. Por outro lado, Prasad, Singh e Campus (1986) afirmam que genitores com moderada divergência genética e alto desempenho *per se* podem ser mais úteis do que aqueles apresentando apenas alta divergência.

4.4 Conclusões

* Os acessos de batata-doce da coleção de trabalho da Esalq/USP apresentaram elevada variabilidade genética para os caracteres relacionados à produção de etanol;

* Os cruzamentos entre os acessos CA_37 x PI_79, UB_53 x PI_79 e UB_64 x PI_79 poderão ser considerados como promissores, uma vez que possibilitarão ampliar o número de recombinantes desejáveis, para que se possam obter genótipos superiores.

Referências

ARRIEL, N.H.C.; VIEIRA, D.J.; ARRIEL, E.F.; PEREIRA, J.R.; COSTA, I.T. Correlações genéticas e fenotípicas e herdabilidade em genótipos de gergelim (*Sesamum indicum* L.). **Revista de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 3, n. 3, p. 175-180, 1999.

AZEVEDO, A.M.; ANDRADE JÚNIOR, V.C. FERNANDES, J.S.C.; PEDROSA, C.E.; OLIVEIRA, C.M. Desempenho agrônômico e parâmetros genéticos em genótipos de batata-doce. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 2, p. 251-256, 2015.

BALAT, M.; BALAT, H. Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. **Applied Energy**, New york, v. 86, n. 11, p. 2273-2282, 2009.

BETIKU, E.; TAIWO, A.E. Modeling and optimization of bioethanol production from breadfruit starch hydrolyzate vis-à-vis response surface methodology and artificial neural network. **Renewable Energy**, Oxford, v. 74, p. 87-94, 2015.

CAMARGO, L.K.P. **Caracterização de acessos de batata-doce do banco de germoplasma da Unicentro-PR**. 2013. 141 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2013.

CAO, Y.; TIAN, H.; YAO, K.; YUAN, Y. Simultaneous saccharification and fermentation of sweet potato powder for the production of ethanol under conditions of very high gravity. **Frontiers of Chemical Science and Engineering**, Beijing, v. 5, n. 3, p. 318-324, 2011.

CARMONA, P.A.O.; PEIXOTO, J. R.; AMARO, G. B.; MENDONÇA, M. A. Divergência genética entre acessos de batata-doce utilizando descritores morfoagronômicos das raízes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 2, p. 251-256, 2015.

DEWAN, A.; L.I, Z.; HAN, B.; KARIM, M.N. Saccharification and fermentation of waste sweet potato for bioethanol production. **Journal of Food Process Engineering**, Essex, v. 36, n. 6, p. 739-747, 2013.

DUVERNAY, W.H.; CHINN, M. S.; YENCHO, G.C. Hydrolysis and fermentation of sweet potatoes for production of fermentable sugars and ethanol. **Industrial Crops and Products**, London, v. 42, p. 527-537, 2013.

FERRARI, M.D.; GUIGOU, M.; LAREO, C. Energy consumption evaluation of fuel bioethanol production from sweet potato. **Bioresource Technology**, Trivandrum, v. 136, p. 377-384, 2013.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV, 2008. 421 p.

GONÇALVES NETO, Á.C.; MALUF, W.R.; ANTONIO, L.; GOMES, A. Produção de etanol e alimentação animal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 11, p. 1513-1520, 2011.

LAREO, C.; FERRARI, M.D.; GUIGOU, M.; FAJARDO, L.; LARNAUDIE, V.; RAMÍREZ, M. B.; MARTÍNEZ-GARREIRO, J. Evaluation of sweet potato for fuel bioethanol production: hydrolysis and fermentation. **SpringerPlus**, London, v. 2, n. 1, p. 493, 2013.

LAURIE, S.M.; CALITZ, F.J.; ADEBOLA, P.O.; LEZAR, A. Characterization and evaluation of South African sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) land races. **South African Journal of Botany**, Amsterdam, v. 85, p. 10–16, 2013.

LEE, W.S.; CHEN, I.C.; CHANG, C.H.; YANG, S.S. Bioethanol production from sweet potato by co-immobilization of saccharolytic molds and *Saccharomyces cerevisiae*. **Renewable Energy**, Oxford, v. 39, n. 1, p. 216–222, 2012.

MA, H.; WANG, Q.; GONG, L.; WANG, X.; YIN, W.; BEIJING, T. Ethanol production from kitchen garbage by *Zymomonas mobilis* : optimization of parameters through statistical experimental designs. **Chemical & Biochemical Engineering Quarterly**, Zagreb, v. 22, n. 3, p. 369–375, 2008.

MANLY, B.J.F. **Métodos estatísticos multivariados**: uma introdução. 3. ed. Porto Alegre: Bookman, 2008. 230 p.

MARTINS, E.C.A.; PELUZIO, J.M.; COIMBRA, R.R.; DE OLIVEIRA JUNIOR, W. P. Phenotypic variability and genetic diversity in sweet potato clones in the state of Tocantins. **Revista Ciência Agronômica**, Ceará, v. 43, n. 4, p. 691–697, 2012.

MASSON, I.S.; COSTA, G.H. G.; ROVIERO, J.P.; FREITA, L.A.; MUTTON, M.A.; MACRELLI, S.; MOGENSEN, J.; ZACCHI, G.; AGUSTINI, D.; JUNIOR, H. E.; DIAS, M.O.S.; DA CUNHA, M.P.; MACIEL FILHO, R.; BONOMI, A.; JESUS, C.D.F.; ROSSELL, C.E.V. Produção de bioetanol a partir da fermentação de caldo de sorgo sacarino e cana-de-açúcar. **Biotechnology for Biofuels**, London, v. 2, n. 8, p. 22, 2015.

MONTEFUSCO, A.; DURANTE, M.; GRASSI, S.; PIRO, G.; DALESSANDRO, G.; LENUCCI, M. S. Assessment of sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] for bioethanol production in southern Italy. **Plant Biosystems**, Rome, v. 148, p. 1117–1126, Mar. 2015.

MUSSATTO, S.I.; DRAGONE, G.; GUIMARÃES, P.M.R.; SILVA, J.P.A.; CARNEIRO, L.M.; ROBERTO, I.C.; VICENTE, A.; DOMINGUES, L.; TEIXEIRA, J.A. Technological trends, global market, and challenges of bio-ethanol production. **Biotechnology Advances**, New York, v. 28, n. 6, p. 817–830, 2010.

OLIVEIRA, A.C.B.; SEDIYAMA, M.A.N.; SEDIYAMA, T.; CRUZ, C.D. Avaliação da divergência genética em batata-doce por procedimentos multivariados. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 22, n. 4, p. 895–900, 2000.

PLACIDE, R.; HUSSEIN, S.; MARK, L.; DAPHROSE, G. Application of principal component analysis to yield and yield related traits to identify sweet potato breeding parents. **Tropical Agriculture**, Trinidad, v. 41, n. 3216, p. 1–15, 2015.

PRASAD, S. K.; SINGH, T.P.; CAMPUS, B.D. Heterosis in relation divergence in maize (*Zea mays* L.). **Euphytica**, amsterdam, v. 35, p. 919-924, 1986.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2016. Disponível em: <<http://www.r>>. Acesso em: 20 fev. 2016

RENEWABLE FUELS ASSOCIATION. Disponível em: <<http://www.ethanolrfa.org/resources/industry/statistics/>>. Acesso em: 19 maio 2016.

RAO, R.C. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York: John Wiley, 1952. 330 p.

SANTA-MARIA, M.C.; YENCHO, C.G.; HAIGLER, C.H.; THOMPSON, W.F.; KELLY, R.M.; SOSINSKI, B. Starch self-processing in transgenic sweet potato roots expressing a hyperthermophilic α -amylase. **Biotechnology Progress**, New York, v. 27, n. 2, p. 351–359, 2011.

SCOTT, A.J.; KNOTT, M.A. Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v. 30, n. 3, p. 507–512, 1974.

SILVEIRA, M.A. **Batata-doce: uma nova alternativa para produção de etanol**. Brasília: IEL; NC, 2008. 163 p. (Álcool combustível/Série Indústria em Perspectiva, 1).

TABORDA, L.W.; MARIA, S.; LOVATO, A.; MARIA, S. Evaluation of the technical and economic feasibility of ethanol production in a pilot plant using sweet potatoes. **Custos e agronegócio**, Recife, v. 96, p. 245–262, 2015.

VEASEY, E.A.; SILVA, J.R.D.Q.; ROSA, M.S.; BORGES, A.; BRESSAN, E.D.A.; PERONI, N. Phenology and morphological diversity of sweet potato (*Ipomoea batatas*) landraces of the Vale do Ribeira. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 64, n. 4, p. 416–427, 2007.

WANG, M.; SHI, Y.; XIA, X.; LI, D.; CHEN, Q. Life-cycle energy efficiency and environmental impacts of bioethanol production from sweet potato. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 133, p. 285–292, 2013.

ZABED, H.; FARUQ, G.; SAHU, J.N.; BOYCE, A.N.; GANESAN, P.A. Comparative study on normal and high sugary corn genotypes for evaluating enzyme consumption during dry-grind ethanol production. **Chemical Engineering Journal**, Lausanne, v. 287, p. 691–703, 2016.

ZISKA, L.H.; RUNION, G.B.; TOMECEK, M.; PRIOR, S.A.; TORBET, H.A.; SICHER, R. An evaluation of cassava, sweet potato and field corn as potential carbohydrate sources for bioethanol production in Alabama and Maryland. **Biomass and Bioenergy**, Aberdeen, v. 33, n. 11, p. 1503–1508, 2009.