

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE
PLANTAS**

MIRIAN DA SILVA ALMICI

**Acesso da variabilidade genética de *Carthamus tinctorius* L. via
diferentes matrizes de dados moleculares, morfológicos e
agronômicos.**

**CÁCERES
MATO GROSSO-BRASIL
FEVEREIRO - 2022**

MIRIAN DA SILVA ALMICI

Acesso da variabilidade genética de *Carthamus tinctorius* L. via diferentes matrizes de dados moleculares, morfológicos e agronômicos.

Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO “Carlos Alberto Reyes Maldonado”, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Aparecido Barelli.

Coorientador: Prof. Dr. Rafael Felipin de Azevedo

CÁCERES
MATO GROSSO-BRASIL
FEVEREIRO – 2022

Diversidade genética de *Carthamus tinctorius* L. via algoritmo de Gower.

MIRIAN DA SILVA ALMICI

Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO Carlos Alberto Reyes Maldonado, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas para a obtenção do título de Mestre.

Aprovado em 25 de fevereiro de 2022

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Marco Antonio Aparecido Barelli
Orientador – UNEMAT- Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado

Prof^a. Dr^a. Leonarda Grillo Neves
UNEMAT- Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado

Prof. Dr. Thiago Alexandre Santana Gilio
UNEMAT- Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado

Prof. Dr. Julio Cesar Ferreira Elias
NUTRIEN Soluções Agrícolas

Luiz Kenji Umeno Alencar CRB 1/2037

ALMICI, Mirian da Silva.
A449a Acesso da Variabilidade Genética de *Carthamus Tinctorius* L.
Via Diferentes Matrizes de Dados Moleculares, Morfológicos e
Agronômicos. / Mirian da Silva Almici - Alta
Floresta/Cáceres/Tangará da Serra, 2022.
70 f.; 30 cm.

Trabalho de Conclusão de Curso
(Dissertação/Mestrado) - Curso de Pós-graduação Stricto Sensu
(Mestrado Acadêmico) Genética e Melhoramento de Plantas,
Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Multicampi,
Universidade do Estado de Mato Grosso, 2022.
Orientador: Marco Antonio Aparecido Barelli
Coorientador: Rafael Felipin Azevedo

1. Cártamo. 2. Análise Conjunta. 3. Melhoramento Genético.
I. Mirian da Silva Almici. II. Acesso da Variabilidade Genética de
Carthamus Tinctorius L. Via Diferentes Matrizes de Dados
Moleculares, Morfológicos e Agronômicos.: .
CDU 633.863

*Confie no Senhor de todo o coração e não se apoie na sua própria inteligência.
Lembre-se de Deus em tudo que fizer, e ele lhe mostrará o caminho.*

Provérbios 3:5-6

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser o meu refúgio e fortaleza, socorro bem presente todos os dias da minha vida, pela sua graça e amor incondicional.

À Universidade Estadual de Mato Grosso “Carlos Alberto Reyes Maldonado” (UNEMAT), Campus de Cáceres-MT, e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, por proporcionar a oportunidade de cursar o Mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, pelo apoio e bolsa conferida.

Ao meu orientador, Marco Antonio Aparecido Barelli pela valiosa oportunidade, orientação, confiança e contribuição para meu desenvolvimento profissional e ao meu coorientador Raphael Felipin Azevedo por toda contribuição e assistência.

Ao meu esposo Rogério Alves Alano e aos meus filhos Arthur Almici Alano e Heitor Almici Alano, pelo apoio e amor oferecidos a mim, pela compreensão nos momentos que eu estive ausente, cansada e muitas vezes ocupada e não pude oferecer o meu melhor.

A minha sogra, Maria Alves Feitosa Alano que não mediu esforços para me acolher e para ficar com meus filhos sempre que foi preciso, ao meu irmão Mateus Henrique da Silva Almici que sempre esteve disposto a me ajudar quando precisei e a toda minha família pelo incentivo e amor.

Aos meus amigos Geiciane da Silva Souza e Ronildo de Souza Silva pelo apoio, pelas orações, por acreditarem em mim e me darem forças para prosseguir, estando sempre presentes na minha vida com palavras de sabedoria.

Às amigas do mestrado, Ana Paula Rodrigues, Crislei Alves Ferreira e Fabricia Favaretto pela parceria, apoio e diversão, tê-los nessa caminhada foi um presente maravilhoso que Deus me concedeu.

A minha amiga Taniele Carvalho de Oliveira que sempre me acolheu e me ajudou com muita sabedoria, bondade e bom humor.

E a todos que de uma forma ou de outra me ajudaram durante esses dois anos de mestrado, meu eterno obrigado.

BIOGRAFIA

Mirian da Silva Almici nasceu em 21 de maio de 1991 na cidade de São José dos IV Marcos - MT, filha de Mauro Almici e Rosa Rodrigues da Silva Almici.

Diplomou-se em Licenciatura plena em Ciências Biológicas, em março de 2015 pela Universidade do Estado de Mato Grosso “Jane Vanini” - UNEMAT, Campus de Cáceres, MT.

Em dezembro de 2016 se especializou em Educação Ambiental pela Faculdade São Braz.

Em fevereiro de 2020 iniciou o curso de Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, na linha de pesquisa em Melhoramento Genético Vegetal, na Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT, em Cáceres, MT.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1. <i>Carthamus tinctorius</i> L.....	14
2.2. Importância da cultura do Cártamo	16
2.3. Melhoramento genético do cártamo	20
2.4. Diversidade genética e análise multivariada	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1. Instalação e condução experimental	25
3.2. Caracterização agrônômica e morfológica	26
3.2.1. Localização e condução do experimento	26
3.2.2. Descritores agrônômicos e morfológicos.....	27
3.3. Caracterização química do óleo	28
3.3.1. Teor de óleo	29
3.3.2. Índice de acidez	30
3.3.3. Índice de iodo	30
3.3.4. Índice de saponificação	31
3.3.5. Esterificação.....	Erro! Indicador não definido.
3.3.6. Perfil dos ácidos graxos por cromatografia gasosa – espectrometria de massas (GC – MS).....	32
3.4. Caracterização molecular.....	33
3.4.2. Extração do DNA.....	33
3.4.3. Amplificação e revelação dos amplicons.....	34
3.5. Análises conjunta	36
3.5.1. Análise Multivariada	36
3.5.2. Matriz de dissimilaridade	36
3.5.3. Métodos de Agrupamento	37
3.5.4. Método de Otimização de Tocher	37
3.5.5. Método Hierárquico de UPGMA	38
3.5.6. Coeficiente de correlação cofenética (CCC)	39
3.5.7. Ward-MLM.....	40
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40

4.1. Medidas de Dissimilaridade.....	40
4.2. Método de Otimização de Tocher e UPGMA e Hierárquico do UPGMA	42
4.3. Ward-MLM.....	49
5. CONCLUSÕES	56
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

RESUMO

ALMICI, Mirian da Silva, M.Sc., UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO “Carlos Alberto Reyes Maldonado”, Fevereiro de 2022, **Diversidade genética de *Carthamus tinctorius* L. via algoritmo de Gower**. Professor orientador: Dr. Marco Antônio Aparecido Barelli, Professor Conselheiro: Dr. Raphael Felipin Azevedo.

Em decorrência da grande demanda por espécies bioenergéticas em escala mundial, a cultura do cártamo vem se destacando como uma importante alternativa para produção bioenergética. O cártamo é uma oleaginosa com diversas aplicações, além de seu potencial bioenergético, tem alto valor para consumo humano, no ramo alimentar, industrial, ornamental, medicinal e consumo animal. Além disso, tem despertado interesse na agricultura nacional, pois se apresenta como uma opção para o cultivo de segunda safra, não competindo por área com culturas utilizadas na alimentação humana. No entanto, a ausência de conhecimentos técnicos em relação ao seu cultivo e a falta de cultivares melhoradas e adaptadas para o nosso ambiente é um dos motivos que impedem a expansão dessa cultura no país. Considerando que o melhoramento genético de cártamo é essencial para aumentar a sua aceitabilidade e utilidade como oleaginosa global, objetivou-se estimar a divergência genética entre acessos de cártamo quanto aos caracteres morfológicos, agronômicos, químicos e moleculares empregando o algoritmo de Gower. As informações referentes à caracterização morfoagronômica, química e molecular, foram obtidas por meio de experimento a campo e laboratório realizadas na Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), Empresa Mato-Grossense de Pesquisa, Assistência e Extensão Rural (EMPAER) e Instituto Federal de Mato Grosso (IFMT). Para obtenção dos resultados realizou-se uma análise conjunta dos dados, em que o Algoritmo de Gower foi utilizado para a confecção da matriz de dissimilaridade. A matriz resultante foi submetida a diferentes agrupamentos, sendo estes os métodos de agrupamento de Otimização de Tocher, Hierárquico do UPGMA e Ward-MLM. Os métodos de agrupamentos aplicados foram eficientes na distinção dos acessos e os resultados apontam a existência de divergência genética entre os genótipos de cártamo. Os genótipos PI 193473, PI 195895, PI 237539, PI 262443, PI 279344, PI 401474, PI 401475, PI 406006, PI 537658, PI 544028, PI 532639, PI 568787, PI 613382, PI 613503, PI 638543 foram os mais divergentes geneticamente, sendo indicados para programas de melhoramento.

Palavras-Chave: Cártamo; Análise conjunta; Melhoramento Genético.

ABSTRACT

ALMICI, Mirian da Silva. UNIVERSITY OF THE STATE OF MATO GROSSO “Carlos Alberto Reyes Maldonado”, February 2022, **Genetic diversity of *Carthamus tinctorius* L. via Gower's algorithm**. Advisor: PhD. Marco Antonio Aparecido Barelli, Co-advisor: PhD. Raphael Felipin Azevedo.

Due to the great demand for bioenergetic species on a world scale, the safflower crop has been highlighted as an important alternative for energy production. Safflower is an oilseed with several applications, in addition to its bioenergetic potential, it has high value for human consumption, in the food, industrial, ornamental, medicinal and animal consumption sectors. In addition, it has aroused interest in national agriculture, as it presents itself as an option for second crop cultivation, not competing for area with crops used for human consumption. However, the lack of technical knowledge regarding its cultivation and the lack of improved cultivars adapted to our environment is one of the reasons that prevent the expansion of this culture in the country. Considering that safflower genetic improvement is essential to increase its acceptability and utility as a global oilseed, the objective was to estimate the genetic divergence between safflower accessions in terms of morphological, agronomic, chemical and molecular characters using the Gower algorithm. A total of 116 genotypes from the LRG&B - UNEMAT Germplasm Collection were evaluated. The information regarding the morphoagronomic, chemical and molecular characterization was obtained through field and laboratory experiments carried out at the State University of Mato Grosso (UNEMAT), Mato-Grossense Company for Research, Assistance and Rural Extension (EMPAER) and Instituto Federal of Mato Grosso (IFMT). For obtain the results, a joint analysis of the data was performed, in which the Gower Algorithm was used to create the dissimilarity matrix. The resulting matrix was submitted to different clusters, such as the Tocher Optimization, Hierarchical UPGMA and Ward-MLM clustering methods. The clustering methods applied were efficient in distinguishing the accessions and the results indicate the existence of genetic divergence between the safflower genotypes. The genotypes PI 193473, PI 195895, PI 237539, PI 262443, PI 279344, PI 401474, PI 401475, PI 401475, PI 406006, PI 537658, PI 544028, PI 532639, PI 568787, PI 568787, PI 613382, PI 613382, PI 613503, PI 638543 were the most divergent genetically, being indicated for possible crosses.

Key words: Safflower; Joint analysis; Genetic improvement

1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda energética, observada nos últimos anos em escala mundial tem promovido uma busca por fontes alternativas de energia, pois a maior parte da energia mundialmente consumida provém de fontes não renováveis, impactando negativamente o meio ambiente e colocando em risco a saúde humana (Schaffner et al., 2019; El Malt e Souza, 2019). A busca por fontes de energia renováveis com menor impacto ambiental tem recebido grande atenção nos mercados nacionais e pesquisas científicas (Delatorre et al., 2011).

Os óleos vegetais apresentam-se como uma alternativa sustentável, renovável, biodegradável e prontamente disponível para a geração de energia, com menor impacto ambiental do que as fontes de energia não renováveis, além de emitir menos poluentes gasosos e materiais particulados (El Malt e Souza, 2019).

De acordo com Hassani et al. (2020) o consumo de oleaginosas aumentou na última década devido à crescente demanda por fontes de óleo para uso alimentar e industrial. Isso exige que a produtividade das culturas continuem aumentando e demonstra uma forte necessidade de se desenvolver novas variedades com maiores rendimentos e capacidade de produzir em diferentes ambientes desafiadores.

Mais de 350 espécies de plantas foram identificadas com potencial para produção de óleo vegetal, as quais, estão em uso ou podem ser usadas para produzir biodiesel (Ramos et al., 2016; Silva, 2018). Dentre estas o *Carthamus tinctorius* L. é uma espécie oleaginosa que vem ganhando espaço nesse cenário de plantas alternativas para produção de energia (Oliveira, 2016).

Cultivado em mais de 60 países, o cártamo configura-se como uma cultura promissora para o Brasil (Bortolheiro, 2015; Lautenchleger et al., 2020), é uma planta herbácea anual, pertencente à família Astaceae com diversas aplicações, além de seu potencial bioenergético, tem alto valor para consumo humano no ramo alimentar, industrial, ornamental, medicinal (Hussain et al., 2015) e consumo animal (Farran et al., 2009). Entre outros aspectos relevantes, a cultura possui ciclo curto, em torno de 140 dias, amplo espectro de adaptabilidade às diversas condições ecofisiológicas, com capacidade de se desenvolver e produzir de forma satisfatória sob baixa disponibilidade hídrica (Gerhard, 2014) e solos pouco férteis (Bortolheiro, 2015). As

sementes dessa espécie contêm até 50% de óleo (Coronado, 2010), e são ricas em ácidos oleico e linoleico (Gerhardt, 2014; Al Snafi; Galant et al., 2015).

No Brasil, a segunda safra não tem sido totalmente explorada, devido aos baixos níveis pluviométricos registrados nesse período que tem dificultado o cultivo de culturas tradicionais de maior importância econômica como a soja e o milho (Lautenchleger et al., 2020). Nesse contexto, o cártamo apresenta-se como uma alternativa importante para a mudança desse cenário, sendo uma cultura que se adapta a essas condições limitantes, podendo ser cultivado no período de safrinha, não competindo por área com culturas utilizadas na alimentação humana. Além disso, sua forma de cultivo é semelhante ao das grandes culturas, sendo possível fazer uso dos mesmos maquinários, para semeadura e colheita (Silva, 2013).

Apesar de todas as vantagens destacadas, e de diversos trabalhos demonstrando aptidão do país para sua produção (Bonfim-Silva et al.; Silva et al.; Zoz, 2015; Guidorizzi, 2016; Olivo, 2017; Paludo et al., 2018), o cártamo ainda apresenta pouca expressão econômica no Brasil. Segundo Gerhardt (2014), a ausência de conhecimentos técnicos em relação ao seu cultivo e a falta de cultivares melhoradas e adaptadas para o nosso ambiente é um dos motivos que impedem a expansão dessa cultura no país.

Os programas de melhoramento genético têm sido utilizados em associação com ferramentas biotecnológicas e técnicas clássicas, onde a principal vantagem da utilização destas é propiciar a redução do tempo para identificação da diversidade genética entre os indivíduos trabalhados (Xavier et al., 2005). Além dos marcadores moleculares, dados morfológicos, como os descritores morfoagronômicos são utilizados para a caracterização da variabilidade de germoplasma (Gomes Filho et al., 2010), sendo que, de acordo com Alves (2016), a caracterização de genótipos via marcadores moleculares complementa a caracterização morfoagronômica, e essa interação possibilita avanços para o desenvolvimento de cultivares superiores.

As técnicas multivariadas permitem avaliar um conjunto de variáveis aleatórias relacionadas entre si, onde cada uma possui o mesmo grau de importância, fornecendo coeficientes de distância genética entre os genótipos. A quantificação da diversidade genética pode ser realizada por meio de caracteres agrônômicos, morfológicos e moleculares e outros (Amorim et al., 2007; Borborema et al., 2020), ou mesmo a análise conjunta destes caracteres.

A análise conjunta dos dados quantitativos e qualitativos resultou em maior eficiência na determinação da divergência genética entre os acessos avaliados, sendo uma alternativa viável e uma ferramenta importante para o conhecimento da variabilidade em bancos de germoplasma.

A análise conjunta de variáveis quantitativas e qualitativas é um indicador mais completo da variabilidade existente nos bancos de germoplasma, é uma alternativa viável por apresentar maior eficiência na determinação da divergência genética entre os acessos avaliados (Gonçalves et al., 2008; Moura et al., 2010). Esse método possibilita a análise simultânea de dados qualitativos e quantitativos, por meio de um algoritmo que estima a similaridade entre dois indivíduos utilizando dados com distribuições contínuas e discretas (Gower, 1971). Com isso, objetivou-se com esse estudo acessar a variabilidade genética de *Carthamus tinctorius* L. via diferentes matrizes de dados moleculares, morfológicos e agronômicos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Carthamus tinctorius* L.

O *Carthamus tinctorius* L., pertencente à família Asteraceae, é comumente conhecido como “kusum” na Índia e no Paquistão, “hong hua” na China e como cártamo, falso açafrão, açafrão tintureiro e açafrão bastardo em vários outros países (Weiss, 1983; Dajue e Mündel, 1996; Babbar et al., 2008; Coronado, 2010). A etimologia da palavra *Carthamus*, deriva do hebraico “Kartami” que significa tingir, em referência ao corante vermelho, laranja e amarelo extraído de suas flores secas, que é constituído basicamente de cartamina e seus derivados, utilizados como corante natural (Oelke et al., 1992; Coronado, 2010; Queiroga et al., 2020).

Relatos sobre o seu cultivo e uso datam mais de 4.000 anos (Ambreen et al., 2015) e apontam a Ásia e a África como prováveis centros de origem da espécie, onde inicialmente era utilizado como corante para tecidos e alimentos e para uso medicinal (Dajue e Mündel, 1996; Weiss, 2000; Silva, 2013). Atualmente vem ganhando destaque devido ao seu potencial para a produção de óleo, que além de ser utilizado na alimentação humana para cozinhar, fabricar margarina e como óleo de salada substituindo o azeite de oliva apresenta potencialidades como matéria prima para produção de biodiesel e na fabricação de tintas e vernizes (Ekin, 2005; Bagheri e Sam-Dailiri, 2011).

É uma oleaginosa de porte herbáceo, caule ereto e ramificado, ligeiramente pubescente ou glabro, de 0,4 e 2,0 m de altura. Possui sistema radicular bem desenvolvido, com uma raiz pivotante que penetra profundamente o solo, podendo atingir até 3,0 m de profundidade (Coronado, 2010), característica que lhe confere maior eficiência para absorção de água de camadas mais profundas do solo (Dajue e Mündel, 1996; Pereira, 2013).

A planta possui folhas simples, inteiras, coriáceas, alternas e dentadas de coloração verde médio a escuro, com espinhos nas margens e no ápice no período da floração. É predominantemente autógama, com taxa de autofecundação superior a 90%, com inflorescências em capítulos terminais globosos isomórficos na haste central e nas ramificações e brácteas involucras externas. Cada ramificação da haste possui de 1 a 5 capítulos solitários no ápice dos ramos nas colorações, creme,

amarelo, laranja ou vermelho (Dajue e Mündel, 1996, Abud et. al., 2010; Bellé et al., 2012; Menegaes, 2019).

Os frutos são secos do tipo cipsela/aquênio concrecido com a semente formando diásporo tetragonal. Cada capítulo, origina 15 a 30 diásporos, em que suas sementes possuem alto teor de óleo (35 a 50%), rico em vitamina C, betacaroteno, proteínas (~36%) e amido (~3%) como matérias de reserva (Coronado, 2010; Menegaes, 2019). Os diásporos (fruto e semente) são eurispérmicos, com formato irregular, ápice achatado e base arredondada, de coloração branca amarelada quando seca, e acinzentada quando hidratada (Abud et al., 2010). No bordo apical podem apresentar uma estrutura denominada papus, constituída de pelos de coloração branca, em torno de um milímetro (Menegaes, 2019).

Possui ciclo relativamente curto, com variações entre 110 a 150 dias, dependendo do genótipo e das condições ambientais (Bortolheiro, 2015; Guidorizzi, 2016). A germinação é do tipo epígea e a plântula fanerocotiledonar, pois há a liberação dos cotilédones do tegumento da semente com conseqüente emergência destes. O processo germinativo inicia-se a partir do primeiro dia da sementeira, com a protrusão da radícula no ápice da semente, próximo à região da micrópila. Inicialmente ocorre um expressivo crescimento da raiz axial e em seguida há exposição do hipocótilo (Abud et al., 2010; Queiroga et al., 2020).

Necessitam de temperatura ambiente maior que 4° C para que ocorra a germinação (Coronado, 2010), nessas condições, as plântulas podem emergir em um intervalo de três a oito dias após a sementeira (DAS), dando início ao estágio de roseta (Oelke et al., 1992; Abud et al., 2010), caracterizado pelo crescimento lento da planta com diversas folhas se desenvolvendo na base do caule, junto ao solo, em arranjo circular com pouco ou nenhum desenvolvimento do caule e grande crescimento de raízes, que lhe conferem maior resistência à seca. (Silva, 2013).

O estágio de roseta tem duração de 21 a 42 dias após a emergência (DAE) das plântulas, dependendo do material genético e das condições ambientais, principalmente a temperatura (Bortolheiro, 2015). Durante este período, são altamente resistentes ao frio e às geadas, mas devido ao seu crescimento lento, são vulneráveis a plantas infestantes que competem por água, luz e nutrientes (Oelke et al., 1992; Borbón-Gracia et al., 2010).

O alongamento e as ramificações do caule são os estádios de maior crescimento vegetativo da planta, com duração aproximada de seis a oito semanas (Queiroga et al., 2020). O início da floração ocorre em torno de 60 a 100 dias após a emergência, tendo duração de 14 a 21 dias, dependendo das condições climáticas. Os aquênios amadurecem quatro a seis semanas após o início da floração (Coronado, 2010) e o ponto ideal para colheita se dá entre duas a três semanas após a maturidade, período em que as plantas se encontram completamente senescentes, apresentando coloração marrom nas folhas e capítulos. Nesta fase, a umidade das sementes encontra-se com aproximadamente 10% (Emongor, 2010).

Em relação às condições de cultivo, o cártamo apresenta elevada capacidade de adaptação às mais diversas condições edafoclimáticas, tendo um bom desenvolvimento em altitudes situadas até 800 metros acima do nível do mar. Pode suportar amplitude térmica de -7 a 40 °C, dependendo do seu estágio de desenvolvimento e considera-se de 20°C a 35°C a faixa de temperatura ideal para o seu bom desempenho (Emongor, 2010; Coronado, 2010).

Possui pouca ou nenhuma resposta ao fotoperíodo e se desenvolve bem em regiões com precipitações acima de 400 mm por ciclo vegetativo, entretanto, não tolera solos encharcados, podendo reduzir seu rendimento e favorecer o desenvolvimento de doenças. É tolerante à seca e, sob escassez hídrica moderada, pode apresentar ligeira redução da produtividade de grãos. Ademais, pode ser cultivada em diferentes tipos de solo, desde que sejam profundos, pouco compactados e bem drenados (Oelke et al., 1992; Mundel et al., 2004; Coronado; Emongor, 2010; Bagheri e Sam-Dailiri, 2011; Hussain et al., 2015). O manejo mecanizado é realizado com o mesmo maquinário utilizado pelas culturas de soja, trigo ou milho, sendo necessário apenas algumas adaptações, o que facilita o seu manejo e reduz custos de produção desta cultura (Silva, 2013).

2.2. Importância da cultura do Cártamo

O cultivo do cártamo tem se expandido nos continentes asiático, europeu e americano, devido ao reconhecimento de suas inúmeras utilidades, fonte de óleo de boa qualidade e alto valor para fins industriais e alimentares (Sehgal e Raina, 2009). Com isso, a cultura tem despertado interesse na agricultura brasileira, pois além da

sua versatilidade de propriedades, apresenta-se como opção promissora para o cultivo no período da entressafra (Guidorizzi, 2016), principalmente para a região do cerrado brasileiro (Zoz et al., 2012), visto que os solos são, em sua maioria, profundos e bem drenados e que há irregularidade do regime pluvial (Anicésio, 2014).

A produção de grãos de cártamo para o ano de 2019 foi em torno de 590 mil toneladas, em uma área cultivada de aproximadamente de 652 mil hectares, onde o Cazaquistão se destacou com a maior área cultivada, com mais de 262 mil hectares, representando 40 % da área total colhida no mundo e também a maior produção, sendo esta, superior a 199 mil toneladas por hectare. Os Estados Unidos da América ocupam a segunda posição em produção (88.130 toneladas), seguido da Rússia (81.189 toneladas), México (51.655 toneladas), China (33.128 toneladas) e Índia (24.640 toneladas) (Faostat, 2021).

Segundo dados da Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAOSTAT), o Brasil não aparece na lista como produtor de cártamo devido à pequena expressão desta cultura. No entanto, trabalhos realizados vêm demonstrando a aptidão do país para produção dessa oleaginosa (Bonfim-Silva et al.; Silva et al.; Zoz, 2015; Guidorizzi, 2016; Olivo, 2017; Paludo et al., 2018).

A cultura do cártamo possui alto valor agregado, visto que todas as suas partes vegetativas ou produtivas podem ser utilizadas. No Brasil, existem apenas sete cultivares registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), sendo elas: Benibana, *Carthamus* Tall Lasting White, Espinheira tintureira, Lasting Orange, Lasting Yellow, Rustisol 120 e a IPR 211 registrada no ano de 2021 pelo Instituto de desenvolvimento Rural do Paraná – IAPAR - EMATER. Destas, três são cultivares ornamentais, sendo elas: Lasting White, Lasting Yellow e Lasting Orange, que de acordo com Lautenchleger et al., (2020), não ultrapassam os 90 cm de altura, preferem temperaturas amenas e podem ser semeadas o ano todo.

As suas flores são utilizadas com fins ornamentais devido a sua admirável beleza como flor de corte, tanto como material fresco, quanto seco (Bradley et al., 1999; Oelke et al., 1992), e o corante extraído de sua flor é utilizado desde a antiguidade para colorir alimentos, produtos têxteis e para fins medicinais (Dajue e Mündel, 1996; Ekin, 2005). Pesquisas evidenciam que o óleo de cártamo é benéfico à saúde humana por possuir diversas propriedades medicinais, visto que, já existem inúmeros medicamentos à base de cártamo atuando na cura de diversas anomalias

(Emongor, 2010; Danieli et al., 2011). As sementes são ricas em minerais (Zn, Cu, Mn e Fe), vitaminas (tiamina e β -caroteno) e tocoferóis α , β e γ (Velasco et al., 2005).

Entre outros usos, apresenta grande potencial para produção de biomassa, com excelente qualidade nutricional, tornando viável sua utilização para alimentação animal, seja na forma de pastagem e forragem ou armazenado como feno ou silagem. Outro aspecto que deve ser ressaltado é o alto rendimento de massa seca, que contribui para a manutenção de palhada em sistema de plantio direto (Zoz et al., 2012).

No consumo humano, o óleo de cártamo é usado principalmente para a produção de óleo comestível e margarina, podendo também ser utilizado como suplemento nutricional, pela grande quantidade de ácido oleico (Ω 9) e linoleico (Ω 6), que podem ajudar na redução do nível de colesterol ruim no sangue (Berglund et al., 2013), na queima de gordura e na tonificação muscular (Medeiros, 2011).

Em relação ao fator energético da planta, os grãos de cártamo possuem teores de óleo que variam de 35 a 50 % (Coronado, 2010), seu óleo é insípido levemente amarelado e com características nutricionais semelhantes ao do girassol (Gerhardt, 2014). O cártamo pode ser caracterizado conforme a predominância do tipo de ácido graxo em maior porcentagem: quando apresenta altos teores de ácidos graxos monoinsaturados é considerado do tipo oleico e outro com altos teores de ácidos graxos poli-insaturados determinado como linoleico, ambos contém principalmente ácido palmítico (C16: 0), ácido esteárico (C18: 0), ácido oleico (C18: 1) e ácido linoleico (C18: 2) (Tabela 1).

Tabela 1. Composição majoritária em ácidos graxos dos óleos de cártamo

VARIEDADE	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	OUTROS
	----- % -----				
CÁRTAMO OLEICO	4 ~ 8	2,3 ~ 8	73,6 ~ 79	11 ~ 19	0,8 ~ 1,9
CÁRTAMO LINOLEICO	5,3 ~ 8	1,9 ~ 2,9	8,4 ~ 23,1	67,8 ~ 83,2	1,2 ~ 2,4

FONTE: Knothe (2005).

Quanto ao uso industrial, apresenta potencial como matéria prima para diversos fins, podendo ser utilizado na produção de biodiesel e na fabricação de tintas,

esmaltes, vernizes, entre outros (Mundel et al., 2004; Ekin, 2005, Chaves Neto et al., 2020). Mundialmente, a principal finalidade do cultivo desta espécie é obtenção de óleo comestível de bom valor nutricional, porém, Dordas e Sioulas (2008) ressaltam que nos últimos anos a importância do cártamo e de outras oleaginosas tem aumentado, principalmente pelo interesse na produção de biocombustíveis.

Pesquisas nacionais com óleo de cártamo para a produção de biodiesel demonstram que a reação de transesterificação tem refletido em bons rendimentos do óleo. Medeiros (2011) ao avaliar a viabilidade técnica do biodiesel metílico do óleo de cártamo por meio da análise dos perfis cromatográficos dos biodieseis de cártamo, verificou que os biodieseis obtidos são adequados para serem utilizados como combustíveis de motores a diesel. Por meio do teste de consumo, o autor constatou ainda que, a blenda entre o biodiesel de cártamo com diesel de petróleo B20 (20% de biodiesel e 80% de diesel), apresenta menor consumo sem déficits de potência, aferindo nestas porcentagens a blenda ideal para o biodiesel de cártamo ser utilizado em motores a diesel.

Oliveira (2016) considerou de forma abrangente a viscosidade, acidez, ácidos graxos livres, índice de peróxidos e poder calorífico ao avaliar as características do biodiesel proveniente de óleo de sementes de cártamo e constatou que, a combustão do biodiesel de cártamo é similar aos padrões do diesel de origem mineral, e que os padrões observados estão de acordo com o estabelecido pela Agência Nacional do Petróleo.

Hashemi et al. (2020) avaliaram a planta de cártamo como matéria-prima atrativa para o desenvolvimento de um sistema de biorrefinaria para a produção de biodiesel a partir de sementes oleaginosas de cártamo, produção de biogás da torta de sementes remanescentes e produção de bioetanol a partir de palha de cártamo e concluíram que o cártamo apresenta alto potencial como matéria-prima para multicomcombustível. É notório o potencial dessa cultura para cultivo no Brasil em função das suas características, no entanto, faz-se necessário ampliar os estudos tanto para manejo, como para o melhoramento genético, visando o desenvolvimento de cultivares adaptados às condições brasileiras.

2.3. Melhoramento genético do cártamo

A variabilidade ou diversidade genética existente em uma espécie ou em espécies correlatas que são capazes de se inter cruzar é a matéria-prima utilizada nos programas de melhoramento (Amabile et al., 2018), considerada como condição básica para o sucesso de um programa de melhoramento genético (Vellini, 2007; Ivoglo et al., 2008). Estudos com a cultura do cártamo têm demonstrado a existência de diversidade genética entre seus genótipos (Silva, 2013; Gerhardt, 2014; Zoz, 2015).

Os programas de melhoramento têm sido direcionados para produzir cultivares resistentes a pragas e doenças e com elevado teor óleo de boa qualidade, para atender às exigências das condições locais, sistemas de cultivo e de demandas do mercado, no entanto, a produtividade é o principal foco da cultura na atualidade (Ekin, 2005).

A diversidade genética do cártamo é expressa na forma de genótipos preservados em bancos de germoplasma, que podem ser avaliados por meio da caracterização dos genótipos, utilizando características morfológicas, agronômicas, fisiológicas e moleculares (Boldt, 2014). Compreender as diferentes características podem ajudar os programas de melhoramento a melhorar suas propriedades nutricionais (Golkar, 2014), bem como, auxiliar os melhoristas no controle de diferentes traços da planta e a evoluir para obtenção de novos genótipos (Singh e Nimbkar, 2006).

Além disso, a avaliação da diversidade genética entre os genótipos de um banco de germoplasma gera informações sobre potenciais genitores a serem utilizados em programas de melhoramento, permitindo a identificação de duplicatas e troca de germoplasma entre pesquisadores (Costa et al., 2011). Os maiores bancos de germoplasma de cártamo estão localizados na Índia, China, Estados Unidos e Etiópia (Dajue e Mundel, 1996; Sigh e Nimbkar, 2007; Silva, 2013). A alta distribuição desses centros fez com que o cártamo chegasse aos mais diversos países, como é o caso do Brasil, sendo uma cultura introduzida pelo Instituto Mato-grossense de Algodão (Gerhard, 2014), que importou 926 acessos de cártamo do banco de germoplasma americano (Zoz, 2015).

A hibridação tem sido a forma mais utilizada para se introduzir variabilidade genética em uma população, devido às diferentes combinações gênicas que podem ser formadas provenientes dos parentais (Borém e Miranda, 2005; Carvalho et. al., 2008; Pinto, 2009). No entanto, por ser um trabalho demorado e detalhista, outra técnica mais prática e rápida foi descrita por Dajue e Mündel (1996), denominada emasculação em massa, cujo método foi desenvolvido no Nimbkar Agricultural Research Institute (NARI), em Phalran, na Índia.

Olivo (2017) ao avaliar 10 combinações de cártamo em dialelo completo em F1 e F2, determinando a capacidade geral (CGC) e específica de combinação (CGE), observou contribuição da CGC na variação genética das populações, evidenciando ações gênicas aditivas para todas variáveis em todas as características avaliadas em F1 (número de ramos por planta, número de capítulos por planta, massa de grãos) e F2 (altura de planta, número de capítulos por planta, massa de grãos, número de grãos por planta, nº de grãos por capítulo, teor de óleo), exceto número de ramos por planta.

Espanini et al., (2019) ao investigar a possibilidade de uso da hibridação interespecífica para expandir a diversidade genética para produção de sementes, seus componentes e tolerância à seca em gerações avançadas utilizando o cártamo cultivado e dois parentais selvagens, constatou que a introdução selvagem pode aumentar a diversidade genética em cártamo e pode desempenhar um papel importante no melhoramento genético da tolerância à seca nesta planta. Além disso, o autor destacou que a seleção indireta (por índice de seleção) para produção de sementes em populações interespecíficas de cártamo é um método útil para desenvolver linhagens superiores em programas de melhoramento e que é possível combinar tolerância à seca com alto potencial de rendimento de genótipos de cártamo por meio de seleção em populações interespecíficas.

2.4. Diversidade genética e análise multivariada

O estudo da diversidade é de grande importância dentro de programas de melhoramento genético, pois é através dele que um pesquisador obtém condições de definir uma estratégia de seleção em busca de cruzamentos mais eficientes e melhores genes (Ferreira, 2007), para que possam ser formados genótipos com

características superiores. Lukde et al. (2017) ressalta que a variabilidade genética é essencial no germoplasma base para que possam ser obtidas as recombinações desejadas nas populações de melhoramento.

Para conhecer a variabilidade disponível é necessário quantificar a variabilidade genética e também classificar o germoplasma em função desta variabilidade, através de análises de agrupamento (Lukde et al., 2017). A estrutura genética da população associada a procedimentos estatísticos apropriados permite estimar ganhos genéticos e prever se determinados indivíduos poderão ou não ser utilizados nas etapas seguintes em um programa de melhoramento (Vencovsky e BARRIGA, 1992).

De acordo com Cruz e Carneiro (2003) a diversidade genética pode ser estimada por meio da medição de características morfológicas, agrônômicas e moleculares entre outros, fazendo uso de métodos biométricos baseados em processos preditivos. Na predição da diversidade, pode-se fazer uso de diversas análises multivariadas, com destaque para os métodos aglomerativos (análise de agrupamento), que têm por finalidade reunir os genitores em vários grupos por critérios de classificação, de tal forma que exista homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre grupos.

A estimativa da diversidade genética normalmente é realizada considerando de forma individualizada dados quantitativos e qualitativos (Cabral et al., 2010), no entanto, quando se tem variáveis quantitativas, qualitativas e/ou multicategóricas simultaneamente, um dos métodos indicados é o algoritmo de Gower (1971), que permite agrupar os indivíduos analisando concomitantemente todos os tipos de variáveis por meio de um algoritmo, em que estima-se a similaridade entre dois indivíduos utilizando dados com distribuições contínuas e discretas.

O processo de agrupamento é formado geralmente por duas etapas, sendo a primeira relacionada com a estimação de uma medida de dissimilaridade entre os genótipos e a segunda com a utilização de um método adequado para a formação dos grupos (Cruz e Regazzi, 2004). Dentre os métodos de agrupamento, os mais utilizados são os de otimização (Tocher) e os hierárquicos (UPGMA e WARD), empregados em grande escala pelos melhoristas de plantas (Cruz e Carneiro, 2003; Bertan et al., 2006; Cruz et al., 2012).

O método de otimização forma os grupos a partir da adequação de algum critério de agrupamento, este método visa maximizar ou minimizar alguma medida de distância pré-estabelecida entre os indivíduos otimizados (Diegues, 2014). Por sua vez, nos métodos hierárquicos os genótipos são agrupados por um processo que se repete em vários níveis até o estabelecimento de um dendrograma de alto conteúdo informativo (Cruz, 2005).

O método de otimização proposto Tocher, citado por Rao (1952) consiste na formação de um grupo inicial composto pelo par de indivíduos mais similares, identificados mediante a matriz de dissimilaridade. Posteriormente avalia-se a inclusão de novos indivíduos, a partir do critério que a distância média dentro de cada grupo deve ser menor que as distâncias médias entre quaisquer grupos.

O UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Using na Arithmetic Average*) é um método de agrupamento não-ponderado, que utiliza médias aritméticas das medidas de dissimilaridade, evitando caracterizar a dissimilaridade por valores extremos (máximo e mínimo) entre os genótipos. A construção do dendrograma é estabelecida pelos modelos ajustados de menor dissimilaridade (Cruz et al., 2004).

A distorção produzida no processo de agrupamento é estimada por um coeficiente de correlação cofenética (CCC) proposto por Sokal e Rohlf (1962), o qual quantifica a concordância entre os valores originais da matriz de dissimilaridade e os elementos da matriz cofenética (Cruz e Carneiro, 2006). De acordo com Vaz Patto et al. (2004), o ajuste do coeficiente de correlação cofenética é considerado bom quando é significativo e apresenta valores iguais ou superiores a 0,56, indicando um bom ajuste entre as matrizes originais de distâncias e as distâncias da matriz cofenética.

Os métodos de agrupamento Tocher e UPGMA são utilizados em conjunto por revelar correspondência na alocação dos genótipos avaliados nos grupos correspondentes, de forma que o UPGMA complementa o método de Tocher (Arriel et al., 2006). A associação de métodos de agrupamento fornece um suporte mais eficiente para a determinação da divergência, pois o Tocher discrimina cada grupo e o UPGMA discrimina cada genótipo, podendo inferir com maior segurança no emprego de genitores em programas de melhoramento (Bertan et al., 2006).

O procedimento MLM (*Modified Location Model*), proposto por Franco et al. (1998), é outra interessante estratégia para quantificar a variabilidade, pois permite analisar variáveis quantitativas e qualitativas simultaneamente, sendo possível ainda,

definir o número ótimo de grupos e identificar a melhor probabilidade de cada acesso alocar-se em determinado grupo (Gonçalves et al., 2009; Krause et al., 2017). Essa estratégia consiste de duas etapas: na primeira, o método de agrupamento Ward (Ward Júnior, 1963) define os grupos por meio da matriz de dissimilaridade de Gower (Gower, 1971) e na segunda, a média do vetor das variáveis quantitativas é estimada pelo procedimento MLM, independentemente do valor das variáveis qualitativas.

Este procedimento tem sido utilizado em várias culturas, a exemplo do feijão (Barbé et al., 2010; Cabral et al., 2010), goiaba (Campos et al., 2013), tomate (Gonçalves et al., 2009), mamona (Oliveira et al., 2013), banana (Pereira et al., 2012), pinhão-manso (Brasileiro et al., 2013;), maracujá (Paiva et al., 2014). Na cultura de cártamo a utilização do Ward-MLM ainda é escassa, mas também vem sendo utilizada.

Houmanat et al., (2021) utilizando métodos estatísticos apropriados para a análise da diversidade genética de cártamo usando análise de agrupamento hierárquico aglomerativos através da combinação de características fenotípicas e marcadores moleculares observaram que o Ward foi o melhor método de classificação de acessos, comparando com o UPGMA, utilizando a distância de Gower para características fenotípicas e dados combinados. Os autores relataram ainda que a análise de agrupamento utilizando características fenotípicas e moleculares separadamente foram menos concordantes, indicando que esses dois conjuntos de características da cultura carregam informações diferentes que devem ser reunidas e combinadas para um agrupamento melhor e mais realista dos acessos de cártamo.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Instalação e condução experimental

As informações referentes à caracterização morfoagronômica, química e molecular, foram obtidas por meio de experimento a campo e laboratório realizadas na Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), Empresa Mato-Grossense de Pesquisa, Assistência e Extensão Rural (EMPAER) e Instituto Federal de Mato Grosso (IFMT). O beneficiamento e armazenamento das sementes e do tecido foliar, bem como a extração do DNA, amplificação e eletroforese dos amplicons, foram realizadas no Laboratório de Recursos Genéticos & Biotecnologia (LRG&B), localizado na UNEMAT, Campus “Carlos Alberto Reyes Maldonado”, Cáceres-MT.

Para a extração e caracterização química do óleo das sementes, as análises foram realizadas no Laboratório de Matérias Primas e Produção de Biodiesel (LMPPB), localizado na UNEMAT, Campus “Deputado Estadual Renê Barbour”, Barra do Bugres-MT. A análise do perfil de ácidos graxos do óleo extraído foi realizada no Laboratório de Instrumentação (LI), localizado no IFMT, Campus “Bela Vista”, Cuiabá-MT.

Foram avaliados 116 genótipos de cártamo, os quais foram cedidos ao Laboratório de Recursos Genéticos & Biotecnologia (LRG&B) da Universidade Estadual de Mato Grosso “Carlos Alberto Reyes Maldonado” (UNEMAT), Campus de Cáceres-MT, pelo Banco Ativo de Germoplasma (BAG) do Instituto Mato-grossense de Algodão (IMA-MT), localizado em Primavera do Leste-MT (Tabela 2).

Tabela 2. Identificação e procedência dos 116 genótipos de *Carthamus tinctorius* L. pertencentes ao LRG&B da UNEMAT, Cáceres-MT

Nº	PI	Origem	Ord.	PI	Origem	Ord.	PI	Origem	Ord.	PI	Origem
1	193473	Etiópia	30	305209	Índia	59	407606	Turquia	88	568866	China
2	195895	Marrocos	31	305540	Cazaquistão	60	407613	Turquia	89	568870	China
3	237539	Turquia	32	306832	Índia	61	451954	Índia	90	568876	China
4	248385	Índia	33	306833	Índia	62	451956	Índia	91	572431	EUA
5	248620	Paquistão	34	306838	Índia	63	506426	China	92	572439	EUA
6	248808	Índia	35	343783	Iran	64	508068	EUA	93	572450	EUA
7	248828	Índia	36	343930	Etiópia	65	514625	China	94	572464	EUA
8	248839	Índia	37	367833	Argentina	66	525457	EUA	95	572544	Canada
9	248852	Índia	38	369845	Tajiquistão	67	537658	EUA	96	576981	China
10	250083	Egito	39	369849	Rússia	68	537673	EUA	97	576985	França
11	250188	Paquistão	40	369854	Uzbequistão	69	537680	EUA	98	613357	EUA

12	250190	Paquistão	41	392029	Turquia	70	537682	EUA	99	613361	EUA
13	250203	Paquistão	42	392030	Turquia	71	537684	EUA	100	613366	EUA
14	250204	Paquistão	43	392031	Turquia	72	537697	EUA	101	613373	EUA
15	250840	Iran	44	393500	Iran	73	537712	EUA	102	613380	EUA
16	250922	Iran	45	401474	Bangladesh	74	544002	China	103	613382	EUA
17	253540	Hungria	46	401475	Bangladesh	75	544013	China	104	613384	EUA
18	253899	Síria	47	401477	Bangladesh	76	544028	China	105	613394	EUA
19	259996	Paquistão	48	401480	Bangladesh	77	544030	China	106	613409	EUA
20	259997	Paquistão	49	401578	Índia	78	544031	China	107	613415	EUA
21	262443	Espanha	50	401589	Índia	79	544036	China	108	613419	EUA
22	262447	Cazaquistão	51	405955	Iran	80	544038	China	109	613422	EUA
23	262450	Índia	52	405961	Iran	81	544043	China	110	613456	EUA
24	279344	Japão	53	405965	Iran	82	560178	EUA	111	613503	EUA
25	283757	Índia	54	405970	Iran	83	532639	Índia	112	613519	Iran
26	304438	Iran	55	405975	Iran	84	568787	China	113	638543	Canada
27	305161	Índia	56	406006	Iran	85	568792	China	114	653143	EUA
28	305198	Índia	57	406007	Iran	86	568795	China	115	653149	China
29	305207	Índia	58	406015	Iran	87	568798	China	116	653186	China

3.2. Caracterização agrônômica e morfológica

3.2.1. Localização e condução do experimento

O experimento foi realizado em condição de campo na área experimental pertencente à EMPAER, latitude 16°43'42" S e longitude 57°40'51" W com altitude de 118 metros, localizado no município de Cáceres-MT, na BR 070. O clima típico dessa região, segundo a classificação de Köppen, é inverno tropical quente, úmido e seco (Awa), com período chuvoso de outubro a abril, e estiagem de maio a setembro (Dallacort et al., 2014). O solo é classificado como Argissolo Vermelho Amarelo Eutrófico chernossólico, com textura média argilosa (Arantes et al., 2012).

Amostras de solo foram coletadas antes da implantação do experimento. Para as análises químicas, foram determinados os seguintes resultados na camada de 0–20 e 20–40 cm respectivamente, conforme tabela 3:

Tabela 3. Análise química e textura do solo de amostras retiradas na profundidade de 0-20 e 20-40 cm da área experimental

Análise Química										
Perfil	pH H ₂ O	pH CaCl ₂	P	K	Ca+Mg	Ca	Mg	Al	H+Al	M.O
			mg dm ⁻³		Cmolc dm ⁻³					g dm ⁻³

0 – 20	6,2	5,5	16,6	0,37	3,3	2,7	0,6	0,0	3,0	25
20 - 40	6,0	5,3	6,0	0,24	2,9	2,1	0,8	0,0	3,2	29

Os 116 genótipos foram plantados em parcelas experimentais de quatro linhas de 1 m de comprimento, dispostas no espaçamento 0,50 m x 0,10 m entre e dentro de fileiras e as avaliações foram realizadas apenas nas duas linhas centrais. A adubação foi realizada com base na análise química do solo e nas recomendações da cultura do girassol, devido à falta de recomendação específica para a cultura no Brasil. Foram aplicados uniformemente na unidade experimental 80g do composto N - P₂O₅ - K₂O (4-14-8).

As medidas básicas de manejo foram adotadas durante o ciclo da cultura, onde realizou-se capina manual para o controle de plantas daninhas e irrigação por aspersão sempre que necessário, para que as condições ideais de desenvolvimento da cultura fossem mantidas. A colheita foi realizada de forma manual após o período de maturação fisiológica de cada genótipo. Após a colheita, os (as) aquênios/cipselas passaram por um processo de beneficiamento para remoção de impurezas e foram armazenados em sacos plásticos impermeáveis etiquetados a uma temperatura de 25 °C para posterior extração do óleo.

3.2.2. Descritores agronômicos e morfológicos

A caracterização agronômica e morfológica baseou-se nos descritores recomendados pelo International Board for Plant Genetic Resources - IBPGR (1983) e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento-MAPA (2013). Sendo avaliadas as seguintes características:

- a) Dias para floração (FLORAC): Determinado pela proporção entre o número de dias desde a semeadura até a floração de 50% das plantas com pelo menos uma inflorescência aberta.
- b) Ciclo da Planta (CICLO): Determinado pela relação entre os dias de semeadura e os dias de colheita.
- c) Número de Ramificações/planta (NRP): Medida determinada pelo número de vezes que a planta ramifica.

- d) Altura da Planta (ALTP): Medida expressa em centímetros, realizada entre o solo e o ápice das plantas, com o auxílio de régua graduada.
- e) Número de Capítulos/planta (NCP): Obtido pela contagem do número total de capítulos por planta.
- f) Número de sementes/capítulo (NSC): Obtido pela contagem da quantidade total de sementes por capítulo.
- g) Diâmetro do capítulo (DCAP): Medido com o auxílio de um paquímetro digital e expresso em milímetros.
- h) Diâmetro do caule (DCAU): Medida expressa em milímetros, determinada pela média de três medições do caule (base, meio e ápice), com um paquímetro digital.
- i) Peso de 100 sementes (P100): Determinado pela contagem ao acaso de quatro amostras e posterior pesagem de cada uma, obtendo-se a média em (g).
- j) Tamanho da Semente (comprimento (TSC) e largura (TSL)): Medida obtida com um paquímetro digital, expressa em centímetros.
- k) Produtividade por planta (PROD): Obtida pela razão entre o peso total das sementes produzidas pelo seu respectivo número de plantas, expressa em g/planta.
- l) Hábito Crescimento (HC): Determinado pelo crescimento dos ramos e floração da planta, classificado como determinado ou indeterminado de porte (1) Ereto; (2) Ereto a Semiereto; (3) Semiereto; (4) Semiereto a horizontal e 5 - Horizontal.
- m) Cor da Flor (CFL): sendo, (1) Branco; (2) Amarelo; (3) Laranja; (4) vermelho.
- n) Margens da Folha (MF): sendo, (1) Margem Inteira; (2) Margem Serrada ou pouco dentada; (3) Muito dentada.
- o) Forma da Folha (FF): sendo, (1) Ovada; (2) Oblonga; (3) Lanceolada; (4) Linear.
- p) Espinhos (ESP): sendo, (1) Ausência ou (2) Presença de espinhos.
- q) Intensidade dos Espinhos (IES): sendo, (1) Ausência, (3) Baixo, (5) Médio e (7) alta.
- r) Pappus (PP): sendo, (1) Ausência ou (2) Presença de pappus.
- s) Tombamento (TB): sendo, (1) mais de 50% de cada tratamento tombadas; (2) menos 50% de cada tratamento não tombou ou não apresentou tombamento.
- t) Maturidade (MT): sendo, (1) Uniforme ou (2) Desuniforme.

3.3. Caracterização química do óleo

Todas as amostras de óleo obtidas após a extração foram submetidas a um processo de caracterização química para avaliação das propriedades pertencentes a cada genótipo, sendo avaliado: teor de óleo, índice de acidez, índice de iodo, índice de saponificação e composição de ácidos graxos.

Para este fim, as sementes de cártamo foram trituradas em um processador com lâminas, cada amostra foi adicionada em cartuchos de papel filtro e pesados em balança analítica, sendo utilizado 10 g de cada amostra triturada para a extração do óleo. A extração foi realizada em aparelho Soxhlet, empregando o método de extração oficial AOCS Am 2-93 (AOCS, 1997), utilizando o éter de petróleo como solvente. O ciclo de extração durou cerca de oito horas e ao final da extração o solvente foi recuperado através do aparelho rota-evaporador.

Posteriormente o óleo extraído foi aquecido em estufa a 80 °C por 12 horas para a evaporação de possíveis resíduos voláteis como água ou solvente e então pesado. Devido à quantidade de óleo obtida, foi realizado um teste para se reduzir o valor da amostra na análise do índice de acidez e saponificação de 2,0 g para 0,5 g. Para comprovar a eficácia do procedimento, as médias dos testes foram submetidas ao teste de desvio padrão, onde foi possível constatar a utilização de 0,5 g no processo das análises (Tabela 4).

Tabela 4. Desvio padrão das médias de quantidade de amostra para análises de índice de acidez e de saponificação

Análise	2.0g	0.5g	Des. Padrão
I. Acidez	0.43	0.16	0.19
I. Saponificação	8.75	12.28	2.49

3.3.1. Teor de óleo

O teor de óleo, obtido das 116 amostras, foi avaliado em triplicata para todos os genótipos e obtido a partir da equação 1 (Oliveira, 2003).

Equação 1:

$$TO = \frac{M \cdot 100\%}{P}$$

Onde:

P: Quantidade de matéria-prima utilizada extração;

M_{óleo}: Massa do óleo obtida;

Teor de óleo: Porcentagem de óleo extraído em relação à massa de semente.

3.3.2. Índice de acidez

As análises de índice de acidez (IC) do óleo extraído das sementes de cártamo foram realizadas de acordo com a metodologia descrita por Moretto e Fett (1998). Em um Erlenmeyer pesou-se 0,5 g da amostra, em seguida, foi adicionado ao recipiente 25 ml de solução de éter etílico + etanol (2:1), agitando-se vigorosamente até a completa diluição do óleo, logo após, acrescentou-se duas gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1%, e procedeu-se à titulação com solução de NaOH 0,1 N até o surgimento da coloração rósea. Com o valor do volume de NaOH gasto na titulação, calculou-se o índice de acidez determinado pela equação 2.

Equação 2:

$$IA = \frac{V \cdot F \cdot 5,61}{P}$$

Onde:

IA: é o índice de acidez;

F: é o fator de correção da solução de NaOH;

V: é o volume de NaOH gasto na titulação (ml);

5,61: é o equivalente grama do KOH;

P: peso da amostra (g).

3.3.3. Índice de iodo

As análises de índice de iodo (II) foram realizadas de acordo com o método 329/IV - IAL (IAL, 2008), adicionando 0,25 g de amostra e 10 ml de tetracloreto de carbono a um frasco Erlenmeyer de 500 ml com tampa, e logo após, acrescentou-se 25 ml de solução de Wijs. A amostra foi mantida em repouso em temperatura ambiente ao abrigo da luz por 30 minutos, decorrido este tempo, foram adicionados 10 ml da solução de iodeto de potássio a 15% e 100 ml de água recentemente fervida e fria.

Para a titulação, foi usado uma solução de tiosulfato de sódio 0,1 M, até o aparecimento de uma fraca coloração amarela. Posteriormente, foi adicionado cerca de 1 a 2 ml de solução indicadora (amido 1%), prosseguindo a titulação até o completo desaparecimento da cor azul. Foi realizada a determinação em branco seguindo as mesmas condições anteriores, porém sem a amostra. O índice de iodo foi calculado a partir da equação 3.

Equação 3:

$$II = \frac{(V_B - V_A) \cdot M \cdot 12,88}{P}$$

Onde:

M = molaridade da solução de Na₂S₂O₃;

V_B = ml gasto na titulação do branco;

V_A = ml gasto na titulação da amostra;

P = n° g da amostra

3.3.4. Índice de saponificação

O índice de saponificação (IS) foi determinado pelo método descrito por Moretto e Alves (1986). Em um balão de fundo chato, pesou-se cerca de 0,5 g de óleo, logo após, foi adicionado 40 ml de solução alcoólica de KOH (4%). Após homogeneização completa, a mistura foi aquecida sob refluxo durante 1 hora para completar a reação de saponificação. Após a finalização do processo de saponificação, a solução fria foi titulada com ácido clorídrico a 0,5 N, utilizando fenolftaleína como indicador. Foi preparado um branco com todos os reagentes exceto a amostra. O IS de cada óleo foi obtido a partir da equação 4.

Equação 4:

$$IS = \frac{(V_b - V_a) \cdot F \cdot 28,05}{P}$$

Onde:

V_a: volume de HCl (0,5 N) gasto na titulação da amostra;

V_b: volume de HCl (0,5 N) gasto na titulação do branco;

F: fator de correção do ácido clorídrico;

28,05: equivalente grama do KOH (56 g/mol);

P: peso da amostra em gramas.

3.3.6. Perfil dos ácidos graxos por cromatografia gasosa – espectrometria de massas (GC – MS)

Para obtenção dos dados cromatográficos, as amostras de óleo de cártamo foram previamente esterificadas, sendo realizada a preparação de ésteres metílicos de ácidos graxos por reação de transesterificação em meio alcalino e a frio, baseado no método 055/IV - IAL (IAL, 2008).

Cerca de 100 mg de amostra de óleo foram pesadas em um tubo de ensaio de 20 ml com tampa. Foram adicionados 2 ml de solução de padrão interno (250 mg de tridecanoato de metila diluído em 100 ml de n-hexano grau HPLC), 0,50 ml de KOH 2 mol/L em metanol e agitados por 30 segundos. Posteriormente, adicionou-se 3 ml de solução saturada de cloreto de sódio, logo que ocorreu a separação das fases, coletou-se o sobrenadante para a posterior análise cromatográfica.

As análises de composição dos ésteres metílicos das amostras de óleo de cártamo foram realizadas baseando-se no método 334/IV- IAL (IAL, 2008), previamente validado. Após separação dos ésteres metílicos de ácidos graxos (EMAG), estes foram analisados em cromatógrafo a gás acoplado a um detector de espectrometria de massas (CG-MS), modelo GC-7890A/MSD-5975C com injetor automático CG Sampler 120, da marca Agilent Technologies®, equipado com coluna capilar de sílica fundida SP 2560 (100 mm x 0,25 mm x 0,2 µm - Supelco®).

As condições de operação foram: linha de transferência, 250 °C; fonte iônica, 230 °C; quadrupolo, 150 °C; detecção por monitoramento SCAN no intervalo de massa de 30 a 450 e ionização por impacto de elétrons a 75 eV. A temperatura inicial da coluna foi de 100 °C (temperatura inicial, 5 minutos); seguido da elevação a uma taxa de 4 °C /minutos até 240 °C (15 minutos), totalizando 55 minutos. As temperaturas do injetor foram 240 °C. O fluxo do gás de arraste (He) foi de 1,20 ml/min e a razão de divisão da amostra (*split*) foi de 1:50. O volume de injeção realizada foi de 5 µL.

Todos os solventes utilizados foram de grau HPLC. Utilizou-se uma mistura de padrões de referências com 37 ésteres metílico (C4-C24, Sigma-Aldrich, Lote LRAC0565) para a quantificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos, por normalização da área pelo padrão interno (C13:0, Sigma-Aldrich, Lote BCCC9587), conforme o método 053/IV - IAL (IAL, 2008). O resultado foi expresso em porcentagem

do ácido graxo na amostra. Para quantificação em porcentagem da concentração dos ácidos graxos contidos no óleo dos genótipos de cártamo avaliados, foi realizada uma normalização de área, dividindo a área de cada ácido graxo pela área do padrão interno.

3.4. Caracterização molecular

3.4.1. Material vegetal

A coleta do material vegetal foi realizada diretamente no campo com o auxílio de uma pinça para cortar as folhas de cada genótipo, para que não houvesse contaminação. Logo após, foram levadas ao laboratório, onde as amostras foram acondicionadas em sacos de zip lock e armazenadas em ultra freezer em temperatura de -80 °C até o processo de extração do DNA.

3.4.2. Extração do DNA

O processo de extração do DNA dos genótipos, foi realizado fazendo-se o uso do kit de extração de DNA genômico *Wizard* da Promega®, seguindo as recomendações propostas pelo fabricante. Após a retirada do tecido foliar do ultrafreezer, uma pequena amostra, de aproximadamente 0,05 g das folhas foram coletadas e colocadas em microtubos de 2,0 ml devidamente enumerados, adicionando-se em seguida, duas beats em cada microtubo.

Seguindo o kit de extração, 600 µL de "*Nucleiylsis Solucion*" foram adicionados em cada microtubo, e essa solução foi levada ao tissuelyser por 10 minutos para a maceração do DNA. Ao término da maceração, as beats foram retiradas de cada microtubo, e os mesmos foram incubados em banho-maria a 65 °C por 15 minutos. Após essa etapa, adicionou-se três µL de *RNAse Solution* aos microtubos, os quais, foram vertidos suavemente por cinco vezes, e incubados novamente em banho-maria a 37 °C por 15 minutos. Após deixá-los por cinco minutos em temperatura ambiente, foram adicionados a solução 200 µL de *Protein*

Precipitation Solution, para que o DNA fosse separado dos resíduos celulares, sendo as amostras levadas ao agitador vórtex em alta velocidade por 20 segundos, e posteriormente, centrifugadas a 14.000 rpm por cinco minutos com temperatura de -4 °C.

Após a centrifugação, o sobrenadante foi recolhido e transferido com o auxílio de uma micropipeta para novo microtubo de 1,5 ml, contendo 600 µL de isopropanol em temperatura ambiente, onde as amostras foram homogeneizadas por inversão e centrifugadas a 14.000 rpm por cinco minutos com temperatura de 22 °C. O sobrenadante obtido após a centrifugação, foi descartado por decantação e no precipitado foram adicionados 600 µL de etanol 70 % em temperatura ambiente, sendo novamente centrifugados por 14.000 rpm por três minutos.

Após a centrifugação, o sobrenadante foi removido por decantação, deixando apenas o *pellet* aderido à parede do microtubo. Para secagem do precipitado, os microtubos foram colocados invertidos sobre papel absorvente por 15 minutos. Os DNAs precipitados foram ressuspensos com água ultrapura autoclavada e colocados na geladeira em *overnight* para uso subsequente.

3.4.3. Amplificação e revelação dos amplicons

Foram utilizados 21 *primers* para os *loci* SSR (Tabela 2), para representar a variabilidade genética do cártamo, sendo pré-estabelecidos por Mokhtari et al. (2018) e Kiran et al. (2017). As amostras de DNAs utilizadas na PCR foram diluídas para a concentração de 10 ng-µL⁻¹ utilizando-se água ultrapura autoclavada como diluente. O mix de PCR foi preparado conforme quantidade e concentração a seguir: 2 µL de DNA (10 ng-µL⁻¹); 0,5 µL do mix de desoxirribonucleotídeos (dATP, dCTP, dGTP e dTTP) (10 mM); 1,25 µL de cada *primer* (*forward* e *reverse*) (10 µM); 5 µL de *buffer* (5X) contendo magnésio (7,5 mM); 0,2 µL taq polimerase (5U) e 14,8 µL de água ultrapura autoclavada, totalizando um volume final de reação de 25 µL.

As reações de amplificação do DNA via PCR foram realizadas de acordo com o protocolo de Williams et al. (1990), em termociclador Perkin Elmer modelo 9600, consistindo em uma fase de desnaturação inicial a 94 °C por cinco minutos, seguido por 35 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 s, anelamento conforme a temperatura

específica do *primer* (Tabela 5) por 30 s, extensão a 72 °C por 30 s, e uma fase de extensão final a 72 °C por cinco minutos.

Tabela 5. Descrição dos 21 marcadores moleculares SSR utilizados para avaliar a diversidade genética de 116 genótipos de *Carthamus tinctorius*

Ordem	Nome da sequência	Tipo de repetição	Sequência 5' a 3' do <i>primer</i>	Temp. de anelamento (°C)
1	CT3	(CT) ₅ ...(CT) ₁₀	AGCGAGACAACCTCTGGGTGT GTGCACCAACTCTGCCTTTA	55,2
2	CT4	(CT) ₉	GCGTTCGAGAAACATTGAGAG AGCCCCATTTGTAGGGATA	54,1
3	CT6	(CT) ₄ ...(CT) ₁₀	AAAGCCCGCCTAAAACACTT AATACGAGTTCGATTGTGTGC	58
4	CT7	(AG) ₆ ...(AGT) ₅	AGTTTTTCAAGGCAGGTGACA CCGTTTTAACTCCCAAACCA	54
5	CT10	(AG) ₄	GTCCGATGCGGTCAAAAT GTTTCAACCACCCGGTTTC	55,2
6	CT11	(TCCT) ₃ ...(TTC) ₂	CGCCTTTCATCCTTGCTC CAGCACCAAGAACCATAGCA	54,1
7	CT12	(CTTT)GA(CTTT) ₂	GCGCAGCAATTTGAGTTCAC ACCAATCGAAAACGGAGATG	54,1
8	CT13	(TCAC) ₂ (TTC) ₂	CTGGAAGTGACCAAAACACCT GGTTGAGTCTTATTTTGGGAGATG	54,1
9	CT14	(TCC) ₄ TCA	CTTCCTTGTTGCTCGTCACA ACACATCCCTCGTTTTCCAG	54,1
10	CT19	(CT) ₄₀	GCTTCCGAATTGAACGGAGA ACATCATCGCCACGTCAGTT	54
11	CT26	(GGAAA) ₂	CATCGCTACCAACCATACCC GCGGAATCGAACACCTATC	54,3
12	CT31	(AG) ₄	CCGACGAAGTGGTGAATAGG TATCCAAACATGCGGTTTCA	55,2
13	CT316	(TC) ₈	CTGAACGAAAACGCAGTCAA TGGGTTTTGGATGTGAGGAT	56,5
14	CT657	(CAT) ₆ ...(CAT) ₁₂	GGCTCAACTCGACTCATCATC GCTTGTTGGGAGGGATCATA	56
15	CT309	(TA) ₈	TTGCAAGATTGTTCTGTCGAT TCCCTTCCTATTCTGGACCC	55,2

Continua...

Tabela 5, Cont...

16	CT599	(TC) ₁₁ ...(TA) ₆	CATTAACCCATCCATCACCC TGTCATCTCTGAAAGCACCG	56
17	CT006	(GT) ₁₂	CAATTTCGCTTCCACCAAGAT TACTCCTACCCGCCACAAAC	55,2
18	CT820	(AG) ₇	TTGCCATTGTTTCGTTAGGT AAAAGAAAACGCGCAGAAGA	55,2
19	CT440	(AG) ₉	AGCAGTAGAGCATAACGCC CAGCCAGCCAGAATGATCG	59,8

20	CT518	(AG) ₁₀	CCCTTTTGGCTCTCCAACCT CTTGGGCCTTCCTCTCTTCT	55,2
21	CT558	(TCC) ₅ ...(GA) ₂₁	ACCTTCTCCTCACCTCCGAT GTCTTAAGCTGTTCCGCCTG	55,2

Posteriormente, o produto da PCR foi armazenado a 4 °C por tempo indeterminado, até o momento da revelação. Os produtos de amplificação (*amplicons*) foram corados com *Gel Red* e *Blue Juice 6X* e visualizados em gel de agarose a 3 %, tendo como solução tampão de corrida o Tris borato EDTA a 1 %, e fotografados em sistema de fotodocumentação Locus Biotecnologia/LPix Image versão 2.7 após cinco horas de corrida do gel à 60 Volts.

Após a fotodocumentação dos géis contendo os fragmentos de DNA amplificados, as alturas de bandas dos alelos foram medidas pelo programa LabImage 1D Revisão 1.10 (Locus Biotecnologia), fazendo a comparação entre bandas de DNA com um padrão (Ladder) de 1000 pares de base (pb).

3.5. Análises conjunta

3.5.1. Análise Multivariada

A análise multivariada foi utilizada para quantificar a divergência entre os genótipos através da avaliação simultânea das variáveis quantitativas e qualitativas utilizando a matriz de distância proveniente do Algoritmo de Gower (Gower, 1971).

3.5.2. Matriz de dissimilaridade

As variáveis quantitativas e qualitativas geradas pela caracterização morfológica, agrônômica, química e molecular foram analisadas conjuntamente através do algoritmo de Gower (1971), gerando-se a matriz de distância através da equação:

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

Em que:

K – é o número de variáveis ($k = 1, 2, \dots, p$);

p – o número total de variáveis;

i e j – par de genótipos, para os quais é calculada a distância genética;

W_{ijk} – é um peso dado à comparação ijk , atribuindo 1 para comparações válidas e valor 0 para comparações inválidas (quando o valor da variável está ausente em um ou nos dois genótipos).

S_{ij} – é a contribuição da variável k na similaridade entre os indivíduos i e j , possuindo valores entre 0 e 1, sendo que:

a) Para uma variável nominal, se o valor da variável k é o mesmo para ambos os indivíduos (i e j), então $S_{ij} = 1$, caso contrário, é igual a zero;

b) Para uma variável contínua, $S_{ij} = 1 - \frac{|x_{ik} - x_{jk}|}{R_k}$, em que x_{ik} e x_{jk} são os valores da variável k para os genótipos i e j , respectivamente, e R_k é a amplitude da variável k na amostra. A divisão por R_k elimina as diferenças entre as escalas das variáveis, produzindo um valor dentro do intervalo $[0, 1]$ e pesos iguais (Rocha et al., 2010).

3.5.3. Métodos de Agrupamento

O agrupamento dos genótipos foi obtido por meio do emprego dos métodos de agrupamento de Otimização de Tocher e o método Hierárquico de Agrupamento Médio Entre Grupos (UPGMA) utilizando o programa computacional Genes (Cruz, 2016), determinando o coeficiente de correlação cofenética para validar o ajustamento entre a matriz de dissimilaridade e o dendrograma gerado pelo método UPGMA. Para a composição dos grupos por meio do procedimento Ward-MLM, utilizou-se a função CLUSTER e IML do programa SAS (2009).

3.5.4. Método de Otimização de Tocher

O método de Otimização de Tocher requer uma matriz de dissimilaridade sobre a qual é identificado o par de indivíduos mais similares, formando assim o grupo inicial (Cruz et al., 2012). Este método prossegue com possibilidade de inclusão de

novos indivíduos, adotando-se o critério de que a distância média intragrupo deve ser menor que a distância média intergrupo (Cruz et al., 2011).

Neste método, a entrada de um indivíduo em um grupo sempre aumenta o valor médio da distância dentro do grupo. Para a inclusão ou não do indivíduo k no grupo é considerado:

Se $\frac{d_{(\text{grupo})k}}{n} \leq \theta$, inclui-se o indivíduo k no grupo;

Se $\frac{d_{(\text{grupo})k}}{n} > \theta$, o indivíduo k não é incluído no grupo;

Sendo n o número de indivíduos que constitui o grupo original e θ é a maior dentre as menores distâncias envolvendo cada genótipo (critério de agrupamento).

Nesse caso, a distância entre o indivíduo k e o grupo formado pelos indivíduos ij é dada por: $d_{(ij)k} = d_{ij} + d_{jk}$

Para determinar a distância média intragrupo têm-se:

$$\bar{d}_i = \frac{2 \sum_{j>}^n \sum_{j'}^n d_{ij'}}{n(n-1)}$$

E para determinar a distância média intergrupo têm-se:

$$\bar{d}_{i'} = \frac{\sum_{j=1}^{n_1} \sum_{j'=1}^{n_2} d_{jj'}}{n_1 n_2}$$

Onde:

n_1 e n_2 são o número de genótipos dentro dos grupos i e i', respectivamente.

3.5.5. Método Hierárquico de UPGMA

O método de ligação média entre grupos não ponderado (UPGMA), utiliza as médias aritméticas (não ponderadas) das medidas dissimilaridade, evitando assim, caracterizar a dissimilaridade por valores extremos (mínimo e máximo) entre os genótipos considerados (Silva, 2012). Segundo Cruz (2006), esse método permite representar os agrupamentos em estruturas de dendrograma onde os genótipos avaliados são agrupados aos pares, utilizando médias aritméticas da dissimilaridade,

priorizando os indivíduos mais similares, os quais são reunidos, formando grupo inicial, e a partir daí calcula-se as distâncias entre um indivíduo k e um grupo formado pelos indivíduos i e j dada por:

$$d_{(ij)k} = \frac{d_{ik} + d_{jk}}{2}$$

Onde:

$d_{(ij)k}$ é dado pela média das distâncias dos pares de indivíduos (i e k) e (j e k), gerando uma nova matriz com esses valores reduzindo a dimensionalidade passo a passo. Com a construção do dendrograma novas distâncias serão estimadas de forma que se um genótipo k for incorporado a um grupo (ij), a distância deste novo grupo (ij.k) em relação ao genótipo (l) ou a outro grupo (lm), é dado por:

$$d_{(ij.k)l} = \frac{d_{il} + d_{jl} + d_{kl}}{3}$$

e

$$d_{(ij)lm} = \frac{d_{il} + d_{im} + d_{jl} + d_{jm} + d_{kl} + d_{km}}{6}$$

3.5.6. Coeficiente de correlação cofenética (CCC)

A validação dos agrupamentos é determinada pelo Coeficiente de Correlação Cofenético (CCC), o qual determina a confiabilidade no ajuste entre a matriz de dissimilaridade e a representação gráfica, determinado pelo teste t. O (CCC) proposto por Sokal e Rohlf (1962) quantifica a concordância entre os valores originais da matriz de dissimilaridade e os elementos da matriz cofenética (Cruz e Carneiro, 2006).

Dada pela expressão abaixo proposta por Bussab et al., (1990):

$$CCC = \frac{\sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n (c_{ij} - \bar{c})(d_{ij} - \bar{d})}{\left(\sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n (c_{ij} - \bar{c})^2 \right)^{\frac{1}{2}} \left(\sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n (d_{ij} - \bar{d})^2 \right)^{\frac{1}{2}}}$$

Em que:

$$\bar{c} = \frac{2}{n(n-1)} \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n c_{ij}$$

$$\bar{d} = \frac{2}{n(n-1)} \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n d_{ij}$$

Onde:

d_{ij} = é o valor da distância entre os indivíduos i e j na matriz cofenética;

d_{ij} = é o valor da distância entre os mesmos indivíduos na matriz original de distâncias;

n = é a dimensão da matriz.

3.5.7. Ward-MLM

Para a composição dos grupos por meio do procedimento Ward-MLM utilizou-se a função CLUSTER e IML, considerando a matriz conjunta obtida a partir do algoritmo de Gower (Gower, 1971). As variáveis canônicas (VC) foram analisadas graficamente usando o procedimento CANDISC, sendo todas as análises realizadas através do software estatístico SAS (Sas, 2009).

A definição do número ideal de grupos foi realizada de acordo com os critérios *pseudo-F* e *pseudo-t²* combinado com o perfil da verossimilhança, obtendo-se o gráfico logaritmo da função da verossimilhança, maximizada, conforme o método MLM, para diferentes números prováveis de grupos. De acordo com os picos de verossimilhança para os diferentes números de grupos formados pelo gráfico, foi definido o melhor número de grupos para a análise. Com base na definição do número ótimo de grupos, uma classificação hierárquica foi obtida pelo método Ward, o qual disponibiliza um valor inicial necessário para programar o passo final do modelo MLM (Franco et al., 1998; Crossa e Franco, 2004).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Medidas de Dissimilaridade

A análise simultânea das variáveis quantitativas e qualitativas obtidas pelo algoritmo de Gower apresentou magnitudes de dissimilaridades que variaram de 3,55 a 17,92, indicando a presença de diversidade genética entre os genótipos avaliados. A combinação entre os genótipos PI 262443 e PI 401474 foi a mais divergente (d_{ij} =

17,92), seguida pelas combinações entre PI 401474 e PI 537658 (d_{ij} = 17,74), PI 237539 e PI 401474 (d_{ij} = 17,56), PI 401474 e PI 613503 (d_{ij} = 17,27), PI 195895 e PI 401474 (d_{ij} = 17,26) e PI 193473 e PI 401474 (d_{ij} = 17,17), estes pares de genótipos apresentaram as estimativas mais elevadas pelo algoritmo de Gower.

De acordo com a análise dos dados, os genótipos mais dissimilares (PI 262443 e PI 401474) divergiram para todas as características agrônômicas e químicas, e também para grande parte das características morfológicas utilizadas no estudo, tendo em comum apenas HC, CFL e TB. Para Gibori et al. (1978), cruzamentos envolvendo genitores mais divergentes tendem a gerar populações com ampla variabilidade genética, de modo que a dissimilaridade entre esses materiais mais distantes indicam que essa combinação possa gerar indivíduos com maior variabilidade quando usados em cruzamento.

O genótipo PI 401474 está presente em todas as combinações com maiores divergências indicadas pelo algoritmo de Gower (1971), isso indica que esse genótipo apresenta-se como o mais divergente dentre todos os genótipos avaliados neste estudo. Ao analisar os dados de campo é possível observar que o genótipo PI 401474 apresenta características relevantes para serem utilizadas em programas de melhoramento, bem como: ausência de espinhos, tombamento inferior a 50%, maturidade uniforme, ciclo curto (125 dias), Índice de acidez (2,21 mgKOH/g) dentro do limite aceitável (4mgKOH/g) para comercialização de óleo bruto estabelecido pela Codex Alimentarius (2015), elevado teor de ácido oleico (68,71%). De acordo com IAL (2008), o índice de acidez é um dos principais parâmetros a ser observado no comércio de óleo por estar intimamente relacionado com a qualidade da matéria-prima, onde os óleos que apresentam altos valores de acidez podem acarretar em custos para as indústrias em qualquer tipo de uso.

A combinação de menor magnitude de distância foi observada entre os genótipos PI 406007 e PI 406015 (d^j = 3,55) comportando-se como os mais similares entre os demais materiais, ambos do Iran, apresentando todas as características morfológicas em comum e as agrônômicas e químicas com características próximas para a maioria das variáveis em estudo, como por exemplo, florescimento (90 dias para ambos); peso de 100 sementes (3,83 g e 3,20 g, respectivamente); teor de óleo (25,92% e 25,91%, respectivamente) e ácido linoleico (52,75% e 53,28%, respectivamente). De acordo com Silva et al. (2012) baixos valores de dissimilaridade

sugerem não haver êxito caso sejam realizados cruzamentos entre esses materiais, devido à estreita base genética existente entre eles.

4.2. Método de Otimização de Tocher e Hierárquico do UPGMA

/

A análise de agrupamento pelo método de otimização de Tocher alocou os 116 genótipos de cártamo em 12 grupos distintos (Tabela 6). O princípio desse método de divergência é manter a homogeneidade dentro dos grupos e heterogeneidade entre os grupos (Silva et al., 2015).

Analisando os resultados apresentados pelo agrupamento de Tocher e os apresentados pela magnitude dissimilaridade, os indivíduos mais dissimilares PI 262443 e PI 401474 estão alocados em grupos distintos (grupos XII e X, respectivamente), já os mais similares PI 406007 e PI 406015 estão localizados no mesmo grupo (grupo I).

O grupo I apresentou o maior número de componentes, reunindo 71 genótipos (61,21 %) do total avaliado, sendo de 14 localidades diferentes (EUA, China, Argentina Bangladesh, Canadá, Egito, Etiópia, França, Hungria, Índia, Iran, Cazaquistão, Paquistão e Turquia), onde o maior número de genótipos tem o EUA como país de origem. Os grupos II e III foram formados com nove genótipos cada (7,76 %), onde o grupo II é representado por cinco genótipos dos EUA, dois da China e dois da Índia e o grupo III, reúne três genótipos da Índia, dois do Paquistão, e os demais são da Etiópia, Marrocos, Turquia e Iran, sendo um genótipo de cada localidade.

Tabela 6. Representação do agrupamento gerado pelo método de otimização de Tocher com base na dissimilaridade entre 116 genótipos de cártamo

Grupo	Genótipos	%
I	PI 406007, PI 406015, PI 407606, PI 544002, PI 576981, PI 407613, PI 613456, PI 306838, PI 613422, PI 613409, PI 613394, PI 305207, PI 305198, PI 343930, PI 576985, PI 572544, PI 568870, PI 572431, PI 572439, PI 405970, PI 613519, PI 537673, PI 537682, PI 304438, PI 305209, PI 568876, PI 568798, PI 253540, PI 613373, PI 544013, PI 568795, PI 568866, PI 544036, PI 306832, PI 305161, PI 259996, PI 544038, PI 250203, PI 613357, PI 250204, PI 613415, PI 572464, PI 653143, PI 367833, PI 306833, PI 250840, PI 537712, PI 613380, PI 613384, PI 613366, PI 401589, PI 405955, PI 401480, PI 405961, PI 283757, PI 392030, PI 572450, PI 250188, PI 305540, PI 262447, PI 262450, PI 393500, PI 544030, PI 250083, PI 248839, PI 544043, PI 544031, PI 568792, PI 401578, PI 653186 e PI 248852	61,21

II	PI 514625, PI 525457, PI 508068, PI 537680, PI 506426, PI 537658, PI 537684, PI 451954 e PI 451956	7,76
III	PI 248385, PI 248828, PI 248808, PI 250190, PI 250922, PI 193473, PI 195895, PI 237539 e PI 248620	7,76
IV	PI 343783, PI 405975, PI 544028, PI 401477, PI 405965, PI 560178, PI 613361, PI 613419, PI 369849 e PI 369845	8,62
V	PI 253899, PI 653149, PI 259997, PI 537697 e PI 613503	4,32
VI	PI 392029, PI 392031 e PI 369854	2,59
VII	PI 568787 e PI 532639	1,72
VIII	PI 613382 e PI 638543	1,72
XI	PI 401475 e PI 406006	1,72
X	PI 401474	0,86
XI	PI 279344	0,86
XII	PI 262443	0,86

O grupo IV reuniu dez genótipos (8,62 %), sendo três deles pertencentes ao Iran, três dos EUA, e os demais são da Rússia, Bangladesh, Tajiquistão e China, sendo um genótipo de cada localidade. O grupo V é representado por cinco genótipos (4,32 %), sendo dois dos EUA e os demais de origem distintas (China, Síria e Paquistão). O Grupo VI apresentou três genótipos (2,59 %), sendo dois da Turquia e um do Uzbequistão. Benin (2002) ressalta que, genótipos com menor distância entre si pertencem ao mesmo grupo de modo que a escolha de genitores de mesmo grupo não é interessante, pois resultam em variabilidade restrita dos parentais nas gerações segregantes.

Os grupos VII, VIII e IX foram formados com dois genótipos cada (1,72 %), agrupando genótipos de origens distintas sendo, Índia e China; EUA e Canadá, e Bangladesh e Iran, respectivamente. Os Grupos X, XI e XII foram os menos expressivos, formados somente por um genótipo cada (0,86%), sendo de Bangladesh (PI 401474), Japão (PI 279344) e Espanha (PI 262443), respectivamente, sugerindo que estes sejam os mais divergentes do total analisado. De acordo com Benitez et al. (2011) a ocorrência de grupos com apenas um genótipo evidencia ampla divergência, já que os genótipos em grupos unitários são mais dissimilares em relação ao conjunto.

O número de grupos formados pelo método de Otimização de Tocher demonstra ampla variabilidade entre os genótipos, sendo que, as características avaliadas são a razão para essa diferença. Pode-se enfatizar que a distribuição dos genótipos nos diferentes grupos é com base nas características avaliadas e não

apresenta uma correlação com a localização geográfica dos materiais avaliados, pois materiais de diferentes localidades foram alocados no mesmo grupo e materiais oriundos da mesma localização geográfica foram alocados em diferentes grupos.

Estudos realizados por Silva et al. (2017) avaliando a diversidade genética entre 203 linhagens e cinco parentais de mamona utilizando descritores morfoagronômicos qualitativos e quantitativos pelo método de Tocher com base no algoritmo de Gower obtiveram a formação de 21 grupos, indicando a presença de variabilidade genética.

Vidal et al. (2021) avaliaram a diversidade genética através de análise conjunta de variáveis morfoagronômicas, multicategóricas e fenológicas entre 85 genótipos de capim-elefante utilizando o método de Tocher com base no algoritmo de Gower e observaram a formação de 11 grupos, demonstrando variabilidade genética entre os acessos. Os autores ressaltaram ainda que a avaliação do maior número possível de descritores é indicada, pois fornece uma análise mais completa de dissimilaridade nos estudos de diversidade genética.

A partir do método de Otimização de Tocher foi estimada a distância intra e intergrupos (Tabela 7), onde a maior distância média intragrupo foi observada nos grupos VIII e IX ($d_{ij} = 0,206$), enquanto a menor distância intragrupo foi observada no grupo VI ($d_{ij} = 0,154$). As distâncias intragrupos foram inferiores a qualquer distância intergrupos, atendendo ao critério estabelecido para o método de otimização de Tocher (Cruz et al. 2012).

Tabela 7. Distâncias médias intra e intergrupos estimadas pelo método de otimização de Tocher com base na dissimilaridade entre os 116 genótipos de *Carthamus tinctorius* L.

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
I	0,193	0,229	0,226	0,226	0,219	0,219	0,242	0,231	0,231	0,299	0,226	0,216
II		0,173	0,239	0,263	0,251	0,252	0,289	0,272	0,267	0,305	0,216	0,253
III			0,189	0,248	0,246	0,260	0,255	0,274	0,272	0,310	0,253	0,251
IV				0,196	0,233	0,237	0,247	0,265	0,217	0,269	0,290	0,269
V					0,196	0,272	0,280	0,253	0,228	0,312	0,262	0,258
VI						0,154	0,249	0,262	0,232	0,234	0,258	0,241
VII							0,188	0,304	0,283	0,318	0,335	0,283

VIII	0,206	0,249	0,304	0,240	0,264
IX		0,206	0,242	0,276	0,289
X			-	0,320	0,366
XI				-	0,225
XII					-

A maior distância intergrupos foi obtida entre os Grupos X e XII (0,366), apresentando maior divergência genética, sendo um indicativo de uma possível melhor combinação para cruzamento. Considerando que maiores distâncias intergrupos estão positivamente relacionadas a maiores divergências genéticas, cruzamentos entre os genótipos dos grupos X e XII apresentam potencial para geração de segregantes superiores.

Por outro lado, as menores distâncias intergrupo foram obtidas entre os grupos I e XII ($d_{I;XII} = 0,216$) e entre II e XI ($d_{II;XI} = 0,216$), indicando uma estreita relação entre eles. De acordo com Oliveira et al. (2003) menores distâncias evidenciam que o intercruzamento dos genótipos dos respectivos pares de grupos pode não ser muito indicado para a obtenção de genótipos superiores nas gerações segregantes.

O método UPGMA (Figura 1) permitiu a formação de treze grupos de diferentes tamanhos, considerando uma linha de corte a 68%, estabelecida pelo teste t para significância.

De acordo com as medidas de dissimilaridade, os genótipos PI 262443 e PI 401474 foram os mais divergentes, sendo alocados em grupos distintos, II e XIII respectivamente, já os mais similares PI 406007 e PI 406015 estão localizados no mesmo grupo (grupo I).

O valor do coeficiente de correlação de cofenética (CCC) foi de 0,57**, considerado significativo, evidenciando ajuste entre a representação gráfica e a matriz original da dissimilaridade. De acordo com Vaz Patto et al. (2004), os coeficientes de correlação cofenética $\geq 0,56$ indicam que o dendrograma reproduz satisfatoriamente a informação contida na matriz de correlação e na consequente formação do cluster. Rohlf e Fisher (1968) acrescentam ainda que ao utilizar matrizes de distância como dados de entrada do agrupamento, a magnitude do CCC diminui ao passo que o número de indivíduos aumenta. Houmanat et al. (2021) avaliando características

fenotípicas qualitativas e quantitativas e marcadores moleculares em 44 acessos de cártamo observaram CCC de 0,67.

Dentre os grupos formados pelo dendrograma, o grupo I reuniu 22 genótipos (18,96 %) do total analisados, alocando materiais de diversas regiões (EUA, Iran, China, Turquia, Etiópia e Índia). Os grupo II, III e VII agruparam 12 genótipos (10,34 %) em cada grupo, sendo o grupo II constituído por sete genótipos provenientes da Índia, dois do Cazaquistão e os demais são do Iran, Japão e Espanha, sendo um genótipo cada. O grupo III alocou três genótipos da Índia e três da Turquia, dois do Iran e Bangladesh, Hungria, Paquistão e Uzbequistão apresentaram apenas um genótipo cada e o grupo VII alocou quatro genótipos dos EUA e quatro do Iran, dois do Paquistão, um da Argentina e um da Índia.

Já o grupo IV foi constituído por 13 genótipos (11,21 %), sendo 11 de origem chinesa os demais são provenientes dos EUA e Índia com um genótipo cada. O grupo

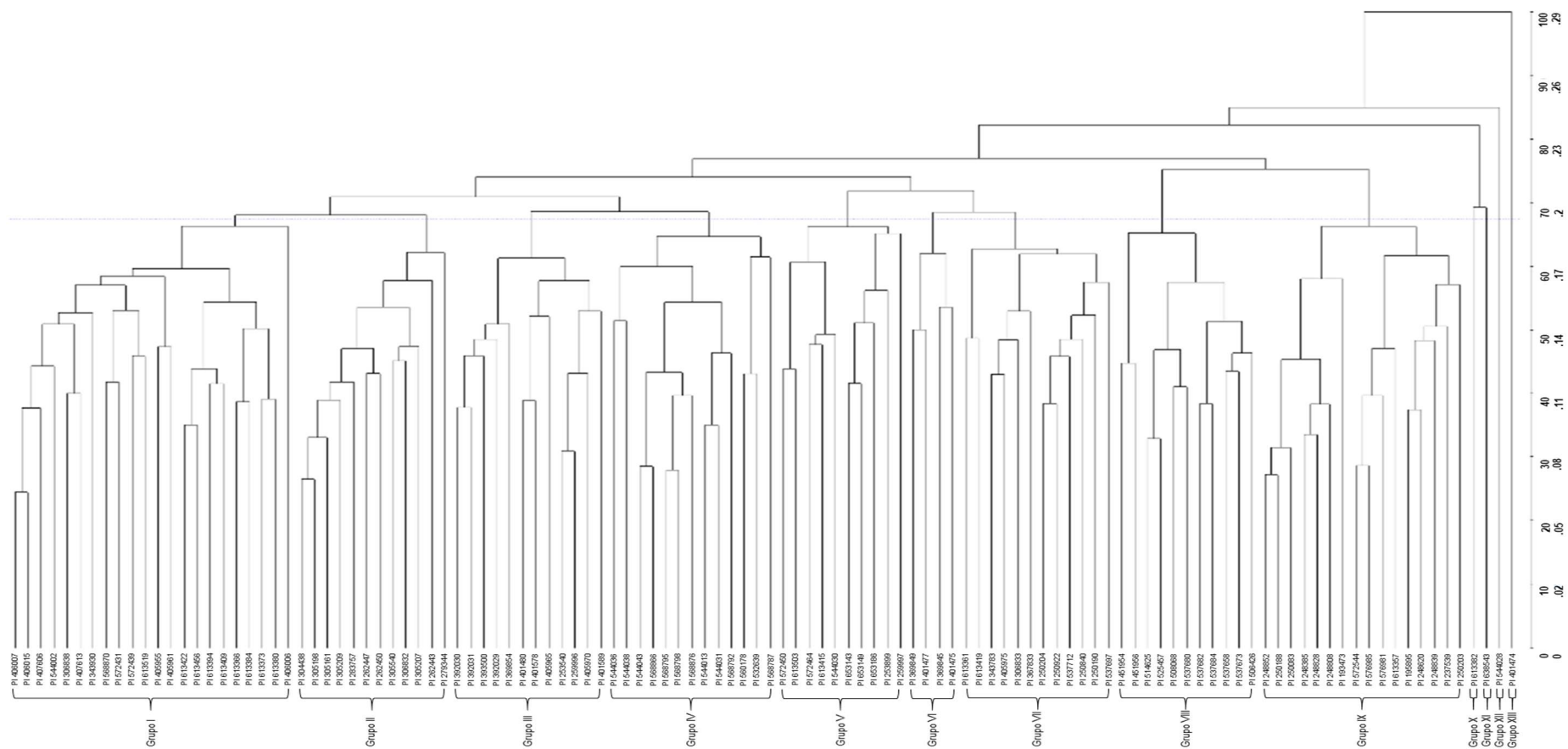


Figura 1. Dendrograma de dissimilaridade genética entre 116 genótipos de *Carthamus tinctorius* L obtido pelo método UPGMA com base no algoritmo de Gower.

V reuniu 10 genótipos (8,62 %), cinco deles dos EUA, três da China (30 %) e Paquistão e Síria apresentaram apenas um genótipo cada e o grupo VI alocou quatro genótipos (3,45 %), dois provenientes de Bangladesh, um da Rússia e um do Tajiquistão. Já o grupo VIII foi constituído por 11 genótipos (9,48 %), sendo sete dos EUA, dois da China e dois da Índia.

O grupo IX alocou 16 genótipos (13,79 %), sendo cinco da Índia, três do Paquistão e Canadá, China, Egito, Etiópia, EUA, França, Marrocos e Turquia apresentaram apenas um genótipo cada. Já os grupos X, XI, XII e XIII foram os menos expressivos agrupando apenas um genótipo em cada grupo, provenientes dos EUA (PI 613382), Canadá (PI 638543), China (PI 544028) e Bangladesh (PI 401474).

O número de grupos formados pelo método de Otimização de Tocher (12 grupos) foi semelhante ao agrupamento feito pelo método UPGMA (13 grupos), no entanto, apresentaram diferenças nos agrupamentos formados mudando parcialmente a composição destes. Os genótipos contidos no grupo II de Tocher foram agrupados em um mesmo grupo UPGMA (grupo VIII), juntamente com os genótipos PI 537673 e PI 537682.

Os genótipos PI 532639 e PI 568787 diferentemente do agrupamento realizado com o método de Tocher, ficaram agrupados com outros genótipos no agrupamento de UPGMA (grupo IV), os genótipos PI 401475 e PI 406006 também foram agrupados com outros genótipos, porém em grupos distintos (grupos VI e I, respectivamente) e os genótipos PI 279344 e PI 262443 foram alocados em um mesmo grupo juntamente com outros genótipos (grupo II). Já os genótipos PI 544028, PI 613382, PI 638543 ficaram separados em agrupamentos individuais pelo método Hierárquico de UPGMA (grupos X e XI, respectivamente) e o genótipo PI 401474 permaneceu agrupado sozinho pelos dois métodos utilizados,

Pelo agrupamento formado pelo UPGMA, os genótipos PI 613382, PI 638543, PI 544028 e PI 401474 ficaram separados em agrupamentos individuais (grupos X, XI, XII e XIII, respectivamente) sugerindo que esses genótipos sejam mais divergentes em relação aos demais. Os resultados aqui encontrados demonstram a variabilidade genética dos genótipos estudados, fato este que proporciona aos melhoristas opções de materiais com potencial para a obtenção de segregantes superiores via esquemas de cruzamentos.

Observou-se que os agrupamentos obtidos pelo método de Tocher e UPGMA estão em concordância com as medidas de dissimilaridade obtidas pelo algoritmo de Gower (1971) tanto para os indivíduos mais similares, quanto para os mais divergentes. A formação desses grupos representa valiosa informação dentro do programa de melhoramento, pois a alocação de genótipos em grupos mais distantes fornece o indicativo de serem dissimilares, podendo ser considerados mais aptos aos cruzamentos híbridos (Abreu et al., 1999).

Queiroz (2015) avaliando a divergência de 20 progênies de meio-irmãos de pinhão-mansão a partir de características morfoagronômicas e moleculares utilizando a mesma metodologia adotada nesse trabalho, observou a formação de quatro grupos pelo UPGMA com CCC de 0,95, indicando uma alta correlação entre as matrizes de distância e de agrupamento. Assim como relatado por Rohlf e Fisher (1968), é possível observar que a magnitude do CCC está relacionada com a quantidade de genótipos avaliados e diminui ao passo que o número de indivíduos aumenta.

Estudos realizados com 16 acessos de mandioca envolvendo análise conjunta pelo método de Gower com marcadores RAPD, caracteres morfológicos e caracteres quantitativos, permitiram a formação de cinco grupos entre os genótipos de mandioca, revelando elevada variabilidade genética entre os mesmos. O coeficiente de correlação cofenética do dendrograma ($r = 0,81$) revelou ajuste considerável entre a representação gráfica da dissimilaridade genética e a matriz original, o que assegura inferências realizadas por meio da avaliação visual (Vieira et al., 2013).

De acordo com Azevedo et al. (2014) as diferenças na estimativa de divergência genética entre os métodos de Tocher e UPGMA são esperadas, considerando que os métodos são baseados em diferentes técnicas de agrupamentos. Os mesmos autores ressaltam ainda que os resultados devem ser comparados em diferentes métodos de análise multivariada para fornecer uma interpretação mais completa dos resultados, evitando assim possíveis erros de identificação.

4.3. Ward-MLM

O procedimento Ward-MLM indicou a formação de cinco grupos de diversidade de acordo com os critérios *pseudo-F* e *pseudo-t²* (Figura 2). O Perfil de

risco associado ao teste da razão de probabilidade mostrou que o maior aumento da função de verossimilhança ocorreu no nível cinco, sendo observado um incremento de 98,63 (Tabela 8). Segundo Barbé et al. (2010) a análise da função da verossimilhança pode definir critérios mais precisos na formação dos grupos, resultando na determinação de grupos menos subjetivos

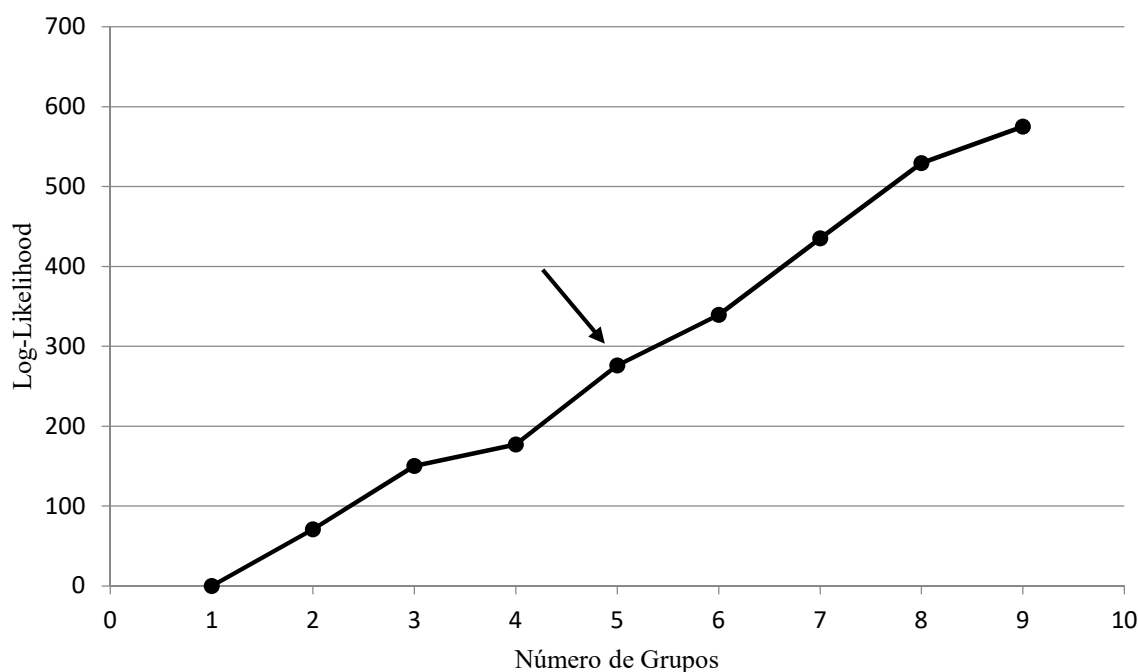


Figura 2. Gráfico da função logarítmica da probabilidade (Log-verossimilhança) em relação ao número ideal de grupos formado pela estratégia Ward MLM.

De acordo com Mingoti (2007), os testes *pseudo-F* e do *pseudo-t²* se assemelham a um teste de hipóteses que compara os vetores médios de dois clusters para formar um único grupo em cada etapa de agrupamento. Neste caso, os maiores valores dos testes estão relacionados com a menor probabilidade de significância do teste e conseqüente menor probabilidade de rejeição da igualdade de médias, se a igualdade dos vetores de médias for rejeitada, os dois grupos não serão unidos e o teste será realizado com outros grupos.

Tabela 8. Número de grupos formados a partir da estratégia Ward-MLM com base na função de probabilidade logarítmica (log-verossimilhança) e seus incrementos

Número de grupos	Log-verossimilhança	Incremento
1	-14905,39	0,00
2	-14834,43	70,96
3	-14755,00	79,43
4	-14728,19	26,81
5	-14629,50	98,69*
6	-14566,16	63,34
7	-14470,21	95,95
8	-14375,93	94,28
9	-14330,22	45,71
10	-14253,78	76,44

*maior incremento

Cabral et al. (2010), avaliaram 57 acessos de feijoeiro comum utilizando simultaneamente características agrônômicas, morfológicas e moleculares e observaram que os maiores incrementos na função da probabilidade foram constatados na constituição de cinco grupos. Em trabalho realizado por Brasileiro (2013) avaliando a divergência genética entre as 20 famílias de pinhão-manso encontrou um maior aumento da função de verossimilhança no grupo 4 (27,74). Oliveira et al. (2013) avaliando 159 genótipos de mamona encontrou valores similares, tendo os maiores aumentos na função de probabilidade no nível do grupo quatro com um incremento de 26,94. De acordo com Gonçalves et al. (2009), o número de grupos pode variar de acordo com a espécie, o número de adesões, bem como do número e tipo de descritores.

O número de acessos por grupo formados pela estratégia Ward-MLM variou de 18 genótipos no grupo III a 28 genótipos no grupo V (Tabela 9). De modo geral, os agrupamentos foram bastante consistentes em função das probabilidades máximas de alocação dos acessos cuja média foi de 0,99. Os valores encontrados estão em concordância com Franco et al. (1998) que demonstraram em vários exemplos práticos que o emprego do método MLM conduz a médias de probabilidade máxima de classificação acima de 0,90 para a maioria dos indivíduos.

Tabela 9. Agrupamento dos 116 genótipos de cártamo de acordo com o procedimento Ward-MLM

Grupos	Genótipos	%
I	PI 401474, PI 544028, PI 405965, PI 401480, PI 392029, PI 401578, PI 406006, PI 406007, PI 305207, PI 406015, PI 405955, PI 405975, PI 343783, PI 259997, PI 306833, PI 306832, PI 305540, PI 405970, PI 392030, PI 392031, PI 393500 e PI 369854	18,96
II	PI 451956, PI 279344, PI 537684, PI 525457, PI 305161, PI 537682, PI 572544, PI 237539, PI 537658, PI 576985, PI 506426, PI 537673, PI 262450, PI 537680, PI 248620, PI 262447, PI 195895, PI 305209, PI 514625, PI 613357, PI 304438, PI 305198, PI 248839, PI 250203, PI 283757, PI 262443 e PI 508068	23,28
III	PI 248808, PI 250190, PI 248385, PI 248828, PI 451954, PI 193473, PI 537697, PI 250840, PI 369845, PI 401475, PI 369849, PI 250922, PI 250204, PI 248852, PI 250188, PI 537712, PI 401477 e PI 250083	15,52
IV	PI 568787, PI 613519, PI 544031, PI 638543, PI 544013, PI 568792, PI 568870, PI 367833, PI 532639, PI 572464, PI 613415, PI 544030, PI 653186, PI 560178, PI 568798, PI 568876, PI 253540, PI 544043, PI 259996, PI 568866 e PI 568795	18,1
V	PI 653149, PI 613419, PI 253899, PI 613382, PI 613366, PI 613384, PI 572439, PI 405961, PI 613361, PI 613503, PI 653143, PI 572450, PI 544002, PI 613394, PI 576981, PI 613422, PI 306838, PI 613456, PI 544038, PI 407606, PI 613409, PI 401589, PI 544036, PI 613373, PI 613380, PI 572431, PI 343930 e PI 407613	24,14

O agrupamento proposto pelo procedimento Ward-MLM considerando todo o conjunto de dados não demonstrou padrão de agrupamento quanto às localidades cujo os genótipos são provenientes, agrupando genótipos representantes de diversas localidades em um mesmo grupo. Em concordância com esse estudo, Fernandes et al., (2018) em estudo de caracterização morfoagronômica e análise de divergência genética em tomates (*Solanum lycopersicum* L.) também observaram essa não associação.

Observou-se ainda a formação de grupos mais compactos e uma alta variabilidade de informações morfológicas, agronômicas e químicas dentro dos grupos, demonstrando não haver padrões de agrupamentos com base nas características quantitativas e qualitativas. Gonçalves et al., (2009) ao avaliar acessos de tomate utilizando dados morfológicos, agronômicos e moleculares via procedimento Ward-MLM fez a mesma constatação. Segundo os autores, a explicação mais provável é que as características fenotípicas avaliadas não foram determinantes na formulação do agrupamento dos acessos, podendo os marcadores moleculares terem tido maior influência na diferenciação dos grupos.

A dissimilaridade dos grupos baseada na distância de *Mahalanobis* pela estratégia Ward-MLM, demonstrou que os grupos IV e V são os mais próximos, apresentando distância de 2,99, enquanto o maior valor para distância foi de 7,02

entre os grupos I e II (Tabela 10). Os cruzamentos entre os grupos I e II podem ser realizados a fim de explorar a heterose na obtenção de indivíduos transgressores para características de produção.

Tabela 10. Distância entre os grupos formados pelo Ward-MLM, com base na distância de *Mahalanobis*

Grupos	I	II	III	IV	V
I	-	7,02	3,49	4,87	3,13
II		-	4,34	6,95	6,91
III			-	6,09	4,79
IV				-	2,99
V					-

As duas primeiras variáveis canônicas, obtidas pela metodologia Ward-MLM, explicaram 75,45 % da variação observada, sendo possível compreender de maneira satisfatória a variabilidade genética entre os acessos avaliados e a relação entre os grupos e os genótipos dentro dos grupos (Figura 3).

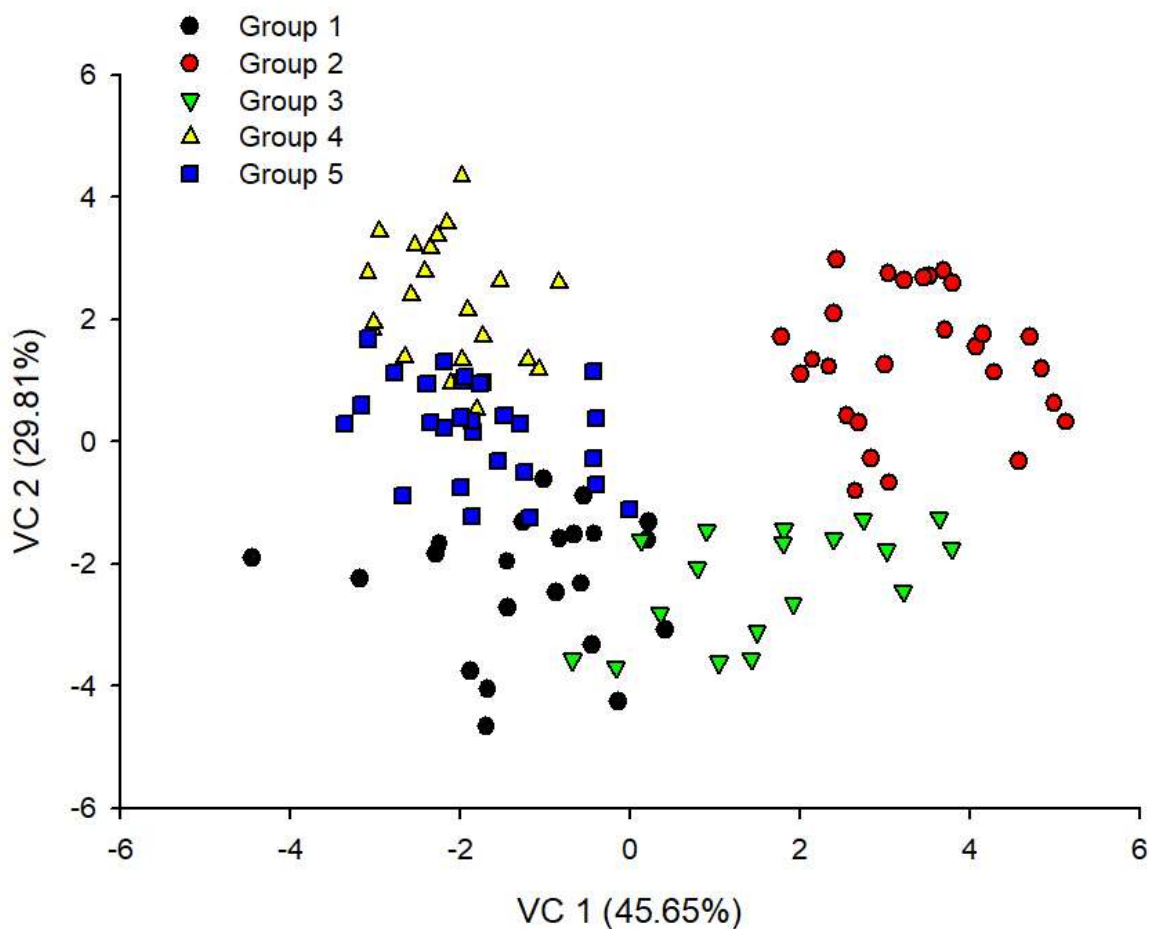


Figura 3. Distribuição das duas primeiras variáveis canônicas demonstrando a formação de cinco grupos pela estratégia Ward-MLM.

Estudos realizados com outras culturas evidenciaram um melhor agrupamento com a metodologia Ward-MLM quando foram utilizados dados agronômicos, morfológicos e moleculares simultaneamente. Essa estratégia permitiu o correto agrupamento de 56 acessos de em *Capsicum ssp.* de acordo com suas respectivas espécies *C. annuum*, *C. frutescens*, *C. baccatum* e *C. chinense* (Sudré et al., 2010). Cabral et al. (2010) observaram uma separação adequada dos acessos entre os grupos formados utilizando simultaneamente os dados agronômicos, morfológicos e moleculares e com a metodologia Ward-MLM.

A grande maioria dos trabalhos que tratam da caracterização e avaliação de germoplasma, em geral, utiliza-se de variáveis qualitativas e quantitativas separadamente, o que segmenta também as inferências e conclusões sobre a divergência genética entre os acessos, limitando, muitas vezes, a utilização posterior desses acessos, por exemplo, em programas de melhoramento genético. A análise conjunta de dados de natureza qualitativa e quantitativa pode permitir melhor compreensão das características consideradas e, principalmente, conclusões mais robustas do ponto de vista estatístico sobre o relacionamento genético entre os acessos estudados (Rocha et al. 2010).

Rocha et al. (2010) ressalta ainda que a análise conjunta dos dados quantitativos e qualitativos permite a unificação de todas as informações, proporcionando maior eficiência na determinação da divergência genética entre os acessos de uma coleção e constituindo-se em alternativa viável e ferramenta importante para o conhecimento do germoplasma. No entanto, poucos trabalhos têm utilizado esta estratégia para quantificar a divergência genética, isto pode ocorrer devido à falta de conhecimento das técnicas estatísticas que permitem essa abordagem e pela falta de programas computacionais livres que possam analisar tal procedimento.

A utilização da análise conjunta de dados é útil para detectar divergência genética e agrupar genótipos por meio do uso simultâneo de descritores agronômicos, morfológicos, químicos e moleculares. Tendo em vista a importância dos caracteres qualitativos e quantitativos para o cártamo, pode-se afirmar que, no presente estudo, essa análise proporcionou suporte e compreensão sobre a diversidade dos genótipos

analisados, pois fornece parâmetros para subsidiar o programa de melhoramento genético da cultura desenvolvido pelo LRG&B.

Pelos resultados, infere-se que os genótipos PI 193473, PI 195895, PI 237539, PI 262443, PI 279344, PI 401474, PI 401475, PI 406006, PI 537658, PI 544028, PI 532639, PI 568787, PI 613382, PI 613503 e PI 638543 destacam-se como os mais divergentes, podendo os mesmos serem utilizados em programas de melhoramento após uma análise mais aprofundada de suas características.

5. CONCLUSÕES

1. Existe variabilidade genética entre os genótipos de cártamo avaliadas e os agrupamentos definidos sugerem possíveis genótipos para utilização nos programas de melhoramento genético.

2.A análise combinada das características qualitativas e quantitativas resultou em diferenças no agrupamento dos acessos de cártamo pelos métodos de Tocher, UPGMA e Ward-MLM.

3. O uso do método Ward-MLM, para conduzir análises conjuntas qualitativas e quantitativas, foi útil para a diferenciação entre os agrupamentos, auxiliando na compreensão sobre a diversidade dos genótipos avaliados.

4.Os genótipos PI 193473, PI 195895, PI 237539, PI 262443, PI 279344, PI 401474, PI 401475, PI 406006, PI 537658, PI 544028, PI 532639, PI 568787, PI 613382, PI 613503, PI 638543 destacam-se como os mais divergentes, sugerindo uma análise mais aprofundada para indicação dos mesmo para um programa de melhoramento.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, Â. D. F. B., ANTONIO, M.; RAMALHO, P.; FERREIRA, D. F. Selection potential for seed yield from intra-and inter-racial populations in common bean. **Euphytica**, v. 108, n.2, p. 121, 1999.

ABUD, H. F.; REIS, R. G. E.; INNECCO, R.; BEZERRA, A. M. E. Emergência e desenvolvimento de plântulas de cártamo em função do tamanho das sementes. **Revista Ciência Agronômica**, v.41, n.1, p.95-99, jan-mar, 2010.

AL-SNAFI, A. E. Chemical constituents and pharmacological Importance of *carthamus tinctorius* – a review. **Research Journal of Pharmacology and Toxicology**, v. 5, n.3, p. 143-166, 2015.

ALVES, L. P. **Caracterização morfoagronômica e molecular de feijão comum**. Alegre: Universidade Estadual do Espírito Santo, 2016. 65p. (Dissertação - Mestrado em Ciências agrárias e engenharias).

AMABILE, R. F.; VILELA, M. S.; PEIXOTO, J. R. Melhoramento de plantas: variabilidade genética, ferramentas e mercado. **Embrapa Cerrados-Livro técnico (INFOTECA-E)**, 2018. Disponível em: <https://www.embrapa.br/cerrados/simposio-melhoramento>. Acesso em: 12, janeiro, 2021.

AMBREEN, H.; KUMAR, S.; VARIATH, M. T.; JOSHI, G.; BALI, S.; AGARWAL, M.; KUMAR, A.; JAGANNATH, A.; GOEL, S. Development of genomic microsatellite markers in *Carthamus tinctorius* L. (safflower) using next generation sequencing and assessment of their cross-species transferability and utility for diversity analysis. **Plos one**, v. 10, n.8, p. e0135443, 2015.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. **Official methods and recommended practices of the AOCS**. American Oil Chemists' Society, 1997.

AMORIM, E. P.; RAMOS, N. P.; UNGARO, M. R. G.; KIIH, T. A. M. AMORIM. Divergência genética em genótipos de girassol. **Ciência e agrotecnologia**, v. 31, p. 1637-1644, 2007.

ANICÉSIO, E. C. A. **Nitrogênio e potássio na adubação do cártamo cultivado em latossolo vermelho**. Rondonópolis: Universidade Federal de Mato Grosso, 2014. 75p. (Dissertação - Mestrado em Engenharia Agrícola).

ARANTES, E. M.; CREMON, C.; LUIZ, M. A. C. Alterações dos atributos químicos do solo cultivado no sistema orgânico com plantio direto sob diferentes coberturas vegetais. **Agrarian**, n.15, p. 47-54, 2012.

ARRIEL, N. H. C.; DI MAURO, A. O.; DI MAURO, S. M. Z.; BAKKE, O.A.; UNÊDA-TREVISOLI, S.H.; COSTA, M. M.; CAPELATO, A.; CORRADO, A. R. Técnicas multivariadas na determinação da diversidade genética em gergelim, usando marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.5, p.801-809, 2006.

AZEVEDO, A. M.; ANDRADE, V. C.; FERNANDES, J. S.; PEDROSA, C. E.; VALADARES, N. R.; FERREIRA, M. A.; MARTINS, R. A. Divergência genética e importância de caracteres morfológicos em genótipos de couve. **Horticultura Brasileira**, v. 32, p. 48-54, 2014.

BABBAR, S. B.; KAUR, A.; WALIA, N. Safflower. **Compendium of Transgenic Crop Plants**, p. 247-262, 2008.

BAGHERI, B.; SAM-DAILIRI, M. Effect of water stress on agronomic traits of safflower spring (*Carthamus tinctorius*). **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, Jordan, v.5, n.12, p.2621-2624, 2011.

BARBÉ, T. C.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; GONÇALVES, L. S. A.; RODRIGUES, R.; SCAPIM, C. A. Association between advanced generations and genealogy in inbred lines of snap bean by the Ward-Modified Location Model. **Euphytica**, 173, 3, 337-343, 2010.

BELLÉ, R. A.; ROCHA, E. K. D., BACKES, F. A. A. L.; NEUHAUS, M.; SCHWAB, N. T. Safflower grown in different sowing dates and plant densities. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.12, p. 2145-2152, 2012.

BELTRÃO, N. E. M.; OLIVEIRA, M. I. P. Oleaginosas e seus óleos: vantagens e desvantagens para produção de biodiesel. **Embrapa Algodão-Documentos (Infoteca-E)**, 2008. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/276836/1/DOC201.pdf>. Acesso em: 21, janeiro, 2021.

BENIN, G.; CARVALHO, F. I. F.; ASSMANN, I. C.; CIGOLINI, J.; CRUZ, P. J.; MARCHIORO, V. S.; LORENCETTI, C.; SILVA, J. A. G. Identificação da dissimilaridade genética entre genótipos de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) do grupo preto. **Current Agricultural Science and Technology**, v.8, n.3, 2002.

BENITEZ, L. C.; RODRIGUES, I. C. S.; ARGE, L. W. P.; RIBEIRO, M. V.; BRAGA, E. J. B. Análise multivariada da divergência genética de genótipos de arroz sob estresse salino durante a fase vegetativa. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n.2, p. 409-416, 2011.

BERGLUND, D. R.; RIVELAND, N. R.; BERGMAN, J. W.; KANDEL, H. **Safflower production**. Circular A 870. Fargo, N. D: NDSU Extension Service, North Dakota, 2013.

BERTAN, I.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; VIEIRA, E. A.; HARTWIG, I.; SILVA, J. A. G.; SHIMIDT, D. A. M.; VALÉRIO, I. P.; BUSATO, C. C.; RBEIRO, G. Comparação de métodos de agrupamento na representação da distância morfológica entre genótipos de trigo. **Revista Brasileira de Agrociência**. 3:279-286, 2006.

BOLDT, A. S. **Coleções nucleares e associação do teor de óleo de cártamo com variáveis ecogeográficas por inteligência computacional**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2014. 67p. (Tese - doutorado em Genética e Melhoramento).

BONFIM-SILVA, E. M.; PALUDO, J. T. S.; SOUSA, J. V. R.; SOUZA, H. H. F.; SILVA, T. J. A. Development of Safflower Subjected to Nitrogen Rates in Cerrado Soil. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, p. 2136-2143, 2015.

BORBÓN-GRACIA, A.; PÉREZ-MÁRQUEZ, J.; GARCÍA-CAMARENA, M. G.; OCHO-ESPINOZA, X. M.; MONTOYA-CORONADO, L.; MACÍAS-CERVANTES, J. **Guía del cultivo del cártamo**. Fundación Produce Sinaloa A. C. Culiacán, Sinaloa. México. 2010, 26p.

BORBOREMA, L. D. A.; JUNIOR, E. O. F., GONÇALVES, R. J. S.; SANTOS, J. S., RODRIGUES, A. P. M. S.; JUNIOR, A. F. M. Diversidade genética entre acessos de feijão-guandu por meio de caracteres morfoagronômicos em região do cariri paraibano. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 15, n. 2, p. 133-138, 2020.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, 2005. 969p.

BORTOLHEIRO, F. P. A. P. **Caracterização de linhagens de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) em condições de deficiência hídrica e reidratação**. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2015. 80p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia).

BRADLEY, V. L.; GUENTHNER, R. L.; JOHNSON, R. C.; HANNAN, R. M. Evaluation of safflower germplasm for ornamental use. **Perspectives on new crops and new uses. Alexandria: ASHS Press**, p. 433-435, 1999.

BRASILEIRO, B. P.; SILVA, S. A.; SOUZA, D. R.; SANTOS, P. A.; OLIVEIRA, R. S.; LYRA, D. H. Genetic diversity and selection gain in the physic nut (*Jatropha curcas*). **Genetics and Molecular Research**, 12, 3, p. 2341-2350, 2013.

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

CABRAL, P. D. S.; SOARES, T. C. B.; GONÇALVES, L. S. A.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; LIMA, A. B. P.; RODRIGUES, R.; MATTA, F. P. Quantification of the diversity among common bean accessions using Ward-MLM strategy. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 45,10, p. 1124-1132, 2010.

CAMPOS, B. M.; VIANA, A. P.; QUINTAL, S. S. R.; GONÇALVES, L. S. A.; PESSANHA, P. G. O. Quantificação da divergência genética entre acessos de goiabeira por meio da estratégia Ward-MLM. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 35, 2, 87-94, 2013.

CARVALHO, F. I. F.; LORENCETTI, C.; MARCHIORO, V. S.; SILVA, S. A. **Condução de populações no melhoramento de plantas**. Pelotas: Ed. Universitária, 2008.

CHAVES NETO, R.; RAMOS, S. M. B.; PEGO, M. F. F.; SANGLARD, D. A. Avaliação de acessos de cártamo adaptáveis às condições de déficit hídrico e seu potencial para programas de melhoramento. **Acta Iguazu**, v.9, n.1, p. 137-149, 2020.

CODEX ALIMENTARIUS. codex Stan 192, 1995. **Norme générale Codex pour les additifs alimentaires**, 2015.

CORONADO, L. M. **El cultivo Del cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) en México**. Instituto Nacional de Investigacion Esforestales, Agrícolas y Pecuárias. México, septiembre, 2010. 98p.

COSTA, T. S.; SILVA, A. V. C. D.; LÉDO, A. D. S.; SANTOS, A. R. F. D.; SILVA JÚNIOR, J. F. D. Diversidade genética de acessos do banco de germoplasma de mangaba em Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, p. 499-507, 2011.

- CROSSA, J.; FRANCO, J. Statistical methods for classifying genotypes. **Euphytica**, v.137, n.1, p. 19-37, 2004.
- CRUZ, C. D. **Princípios de genética quantitativa**. Viçosa: UFV, 2005. 394p.
- CRUZ, C. D. **Programa Genes: Análise multivariada e simulações**. Viçosa: UFV, 2006. 175p.
- CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2003. 585p.
- CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2006. v. 2, 585p.
- CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema, 2011. 620p.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: Ed. UFV, Universitária, 1994. 394p.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelo biométrico aplicado ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2012. v.1, 514p.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2004. 480p.
- DAJUE, L.; MÜNDEL, H. H. **Safflower (*Carthamus tinctorius* L.)**. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crop. IPGRI: International Plant Genetic Resource Institute. Rome, 1996. 81p.
- DALLACORT, R.; SILVA NEVES, S. M. A.; NUNES, M. C. M. Variabilidade da temperatura e das chuvas de Cáceres/Pantanal Mato-Grossense-Brasil. **Geografia (Londrina)**, v.23, n.1, p. 21-33, 2014.
- DANIELI, P. P.; PRIMI, R.; RONCHI, B.; RUGGERI, R.; ROSSINI, F.; DEL PUGLIA, S.; CERETI, C. F. The potential role of spineless safflower (*Carthamus tinctorius* L.) as fodder crop in central Italy. **Italian Journal of Agronomy**, v.6, n.1, p. 4, 2011.
- DELATORRE, A. B.; RODRIGUES, M. P.; AGUIAR, C. J.; ANDRADE, V. V. V.; AREDES, A.; PEREZ, V. H. Produção de biodiesel: considerações sobre as diferentes matérias-primas e rotas tecnológicas de processos. **Biológicas & Saúde**, v. 1, n. 1, 2011.
-

DIEGUES, I. P. **Diversidade genética entre acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) Mensurada via caracteres morfoagronômicos e marcadores ISSR**. Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2014. 64p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).

DORDAS, C. A.; SIOULAS, C. Safflower yield, chlorophyll content, photosynthesis, and water use efficiency response to nitrogen fertilization under rainfed conditions. **Industrial Crops and Products**, v.27, n.1, p. 75-85, 2008.

EKIN, Z. Resurgence of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) utilization: a global view. **Journal of Agronomy**. 4: 83-87, 2005.

EL MALT, F. I.; SOUZA, C. B. Tecnologia sustentável na produção de biodiesel. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade**, v. 6, n. 13, p. 385-392, 2019.

EMONGOR, V. Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) the underutilized and neglected crop: **A review**. **Asian Journal of Plant Science**, v.9, p.299-306, 2010.

ESPANANI, S.; MAJIDI, M. M.; SAEIDI, G.; ALAEI, H.; REZAEI, V. Wide hybridization and introgression breeding in safflower: Effectiveness of different selection methods. **Plant Breeding**, v.138, n.6, p. 846-861, 2019.

FAO Global Statistical Yearbook, FAO Regional Statistical Yearbooks. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 21 out. 2021.

FARRAN, M. T.; BARBOUR, G. W.; USAYRAN, N. N; YAU, S. K.; SALEM, R.; JABBOUR, C. Performance of male broiler chicks fed practical diets containing graded levels of de-hulled extruded safflower meal during the starter period. **Proceedings of the Second Mediterranean Summit of WPSA**. Turkey: Antalya, 2009, p. 507-509.

FERNANDES, M. D. O.; BIANCHI, P. A.; SILVA, L. R. A. D.; VIANNA, L. S.; SANTOS, E. A.; MOULIN, M. M. Morpho-agronomic characterization and analysis of genetic divergence among accessions of tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.). **Ciência Rural**, v. 48, 2018.

FERREIRA, F. M. **Diversidade em populações simuladas com base em locus multialélicos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007. 177p. (Tese - Doutorado em Genética e Melhoramento).

FRANCO, J.; CROSSA J.; VILLASENÖR, J.; TABA, S. Classifying genetic resources by categorical and continuous variables. **Crop Science**, Madison, v.38, n.6, p.1688-1696, 1998.

GALANT, N. B.; SANTOS, R. F.; SILVA, M. A. Melhoramento de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.). **Revista Acta Iguazu**, Cascavel, v.4, n.1, p. 14-25, 2015.

GERHARDT, I. F. S. **Divergência genética entre acesso de cártamo** (*Carthamus tinctorius* L.). Botucatu: Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, 2014. 43p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia).

GIBORI, A.; HILLEL, J.; CAHANER, A.; ASHRI, A. A 9× 9 diallel analysis in peanuts (*A. hypogaea* L.): Flowering time, tops' weight, pod yield per plant and pod weight. **Theoretical and Applied Genetics**, v.53, n.4, p. 169-179, 1978.

GOLKAR, P. Breeding improvements in safflower (*Carthamus tinctorius* L.): a review. **Australian Journal of Crop Science**, v.8, n.7, p. 1079, 2014.

GOMES FILHO, A.; OLIVEIRA, J. O.; VIANA, A. P.; SIQUEIRA, A. P. O.; OLIVIERA, M. G.; PEREIRA, M. G. Marcadores moleculares RAPD e descritores morfológicos na avaliação da diversidade genética de goiabeiras (*Psidium guajava* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.32, n.4, p. 627-633, 2010.

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

GONÇALVES, L. S. A.; RODRIGUES, R.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; KARASAWA, M.; SUDRÉ, C. P. Heirloom tomato gene bank: assessing genetic divergence based on morphological, agronomic and molecular data, using a Ward-modified location model. **Genetics and Molecular Research**, 8, 1, 364-374, 2009.

GOWER, J. C. A general coefficient of similarity and some of its properties. **Biometrics**, 27,4, 857-871, 1971.

GUIDORIZZI, F. V. C. **Acúmulo de macronutrientes e produtividade de genótipos de cártamo** (*Carthamus tinctorius* L.) em função da adubação nitrogenada no sistema plantio direto. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2016. 69p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia).

HASHEMI, S. S.; MIRMOHAMADSADEGHI, S.; KARIMI, K. Biorefinery development based on whole safflower plant. **Renewable Energy**, v. 152, p. 399-408, 2020.

HASSANI, S. M. R.; TALEBI, R.; POURDAD, S. S.; NAJI, A. M.; FAYAZ, F. Morphological description, genetic diversity and population structure of safflower

(*Carthamus tinctorius* L.) mini core collection using SRAP and SSR markers. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v.34, n.1, p. 1043-1055, 2020.

HOUANAT, K.; DOUAIK, A.; CHARAFI, J.; HSSAINI, L.; EL FECHTALI, M.; NABLOUSSI, A. Appropriate statistical methods for analysis of safflower genetic diversity using agglomerative hierarchical cluster analysis through combination of phenotypic traits and molecular markers. **Crop Science**, v.61, n.6, p. 4164-4180, 2021.

HUSSAIN, M. I.; LYRA, D. A.; FAROOQ, M.; NIKOLOUDAKIS, N.; KHALID, N. Salt and drought stresses in safflower: a review. **Agronomy for sustainable development**, v.36, n.1, p. 4, 2015.

IBPGR-International Board for Plant Genetic Resources. **Safflower descriptors**. Roma 1983. Disponível em: https://www.bioversityinternational.org/index.php?id=244&tx_news_pi1%5Bnews%5D=251&cHash=0a34293e359ab49c97ad47c744af5f8b. Acesso em: 26, Agosto, 2021.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ, I. A. L. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4 ed. São Paulo. USP. 2008. 1020p. Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/nutricaoobromatologia/files/2013/07/NormasADOLFOLUTZ.pdf>. Acesso em: 23, outubro, 2020.

IVOGLO M. G.; FAZUOLI L. C.; OLIVEIRA A.C.B.; GALLO P. B.; MISTRO J. C.; SILVAROLLA M. B.; TOMA-BRAGHINI M. Divergência genética entre progênies de café robusta. **Bragantia**, v.67, n.4, 2008.

KIRAN, B. U.; MUKTA, N.; KADIRVEL, P.; ALIVELU, K.; SENTHILVEL, S.; KISHORE, P.; VARAPRASAD, K. S. Genetic diversity of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) germplasm as revealed by SSR markers. **Plant Genetic Resources**. 15: 1, 2017.

KNOTHE, G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. **Fuel processing technology**, v.86, n.10, p. 1059-1070, 2005.

KRAUSE, W.; VIANA, A. P.; CAVALCANTE, N. R.; AMBRÓSIO, M.; SANTOS, E. A.; VIEIRA, H. D. Digital phenotyping for quantification of genetic diversity in inbred guava (*Psidium guajava*) families. **Genetic and Molecular Research**, v.16, n.s1, 2017.

LAUTENCHLEGER, F.; POLETINE, J. P.; BRONDANI, S. T.; BARELLI, M. A. A; DA SILVA, V. P. Divergência genética entre acessos de cártamo no arenito caiua. **Journal of Agronomic Sciences**. 9: 108-127, 2020.

MAPA-Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.)** Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumosagricolas/protecao-de-cultivar/arquivos_agricolas/formulario_cartamo_jan13p.doc. Brasil, 2013. Acesso em: 26, agosto, 2021.

MAPA-Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Registro Nacional de Cultivares (RNC)**. Disponível em: <https://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php>. Acesso em: 29, outubro, 2021.

MEDEIROS, P. T. **Viabilidade técnica do biodiesel metílico do óleo de duas variedades de *Carthamus tinctorius* L. como substituto do diesel de petróleo**. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, 2011. 88p. (Dissertação - Mestrado em Química).

MENEGAES, J. F. **Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de *Carthamus tinctorius* L. (Asteraceae) submetidas à termoterapia e ao armazenamento e produção de hastes florais e sua conservação em pós-colheita**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2019. 150p. (Tese – Doutorado em agronomia).

MINGOTI, S. A. Análise de dados através de métodos estatística multivariada: uma abordagem aplicada. In: **Análise de dados através de métodos estatística multivariada: uma abordagem aplicada**. 2007. p. 295-295.

MOKHTARI, N.; SAYED-TABATABAEI, B. E.; BAHAR, M.; ARABNEZHAD, H. Assessment of genetic diversity and population genetic structure of *Carthamus* species and Iranian cultivar collection using developed SSR markers. **Journal of genetics**. v.97, n.1, p. 67-78, 2018.

MORETTO, E.; ALVES, R. F. **Óleos e gorduras vegetais: Processamento e análises**. Florianópolis: UFSC, 1986, 179p.

MORETTO, E.; FETT, R. Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais na Indústria de Alimentos. São Paulo: Livraria Varela; 1998, 150p.

MOURA, M. C. C. L.; GONÇALVES, S. A.; SUDRE, C. P.; RODRIGUES, R.; JUNIOR, A. T. A.; PEREIRA, T. N. S. Algoritmo de Gower na estimativa da divergência genética em germoplasma de pimenta. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. 155-161, 2010.

MÜNDEL, H. H.; BLACKSHOW, R. E.; BYERS, J. R.; HUANG, H. C.; JOHNSON, D. L.; KEON, R. **Safflower production on the Canadian Prairies**. Lethbridge, Canada. 2004, 36p.

OELKE, E. A.; OPLINGER, E. S.; TEYNOR, T. M.; PUTNAM, D. H.; DOLL, J. D.; KELLING, K. A.; DURGAN, B. R. **Safflower**. Alternative Field Crops Manual, 8p. Feb. 141. 1992. Disponível em: <https://www.hort.purdue.edu/newcrop/afcm/safflower.html>. Acesso em: 26, outubro, 2021.

OLIVEIRA, C. V. K. **Análise do cártamo como cultura energética**. Cascavel: Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2016. 47p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia).

OLIVEIRA, G. de P. Extração do óleo de semente de uva por prensagem. **Revista de Ciências Exatas e Engenharia**, Porto Alegre, n.2, v.13, 2003.

OLIVEIRA, R. S.; SILVA, S. A.; BRASILEIRO, B. P.; MEDEIROS, E. P.; ANJOS, E. V. A. Genetic divergence on castor bean using the ward-mlm strategy. **Revista CiênciaAgrônômica**, 44, 3, 564-570, 2013.

OLIVO, M. **Cruzamentos dialélicos f1 e f2 em cártamo (*Carthamus tinctorius* L.)**. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2017. 51p. (Tese - Doutorado em Agronomia).

PAIVA, C. L.; VIANA, A. P.; SANTOS, E. A.; SILVA, R. N. O.; OLIVEIRA, E. J. D. Diversidade genética de espécies do gênero *Passiflora* com o uso da estratégia Ward-MLM. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 381-390, 2014.

PALUDO, J. T. S.; BONFIM-SILVA, E. M.; SILVA, T. J. A.; SOUZA, H. H. F.; ZANOTTO, M. D.; FENNER, W. Agronomic performance of Safflower genotypes (*Carthamus tinctorius* L.) under different soil bulk density levels in the Oxisol of the Cerrado. **Australian Journal of Crop Science**. v.12, n.3, p. 407-412, 2018.

PEREIRA, G. M. ***Carthamus tinctorius* L.: armazenamento de sementes, viabilidade do óleo para biodiesel e da torta para alimentação animal**. Natal:

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2013. 100p. (Dissertação – Mestrado em desenvolvimento e meio ambiente/PRODEMA).

PEREIRA, V. M.; BORGES, C. V.; BRANDÃO, L. P.; OLIVEIRA, L. S. Genetic diversity between improved banana diploids using canonical variables and the Ward MLM method. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p. 1480-1488, 2012.

PINTO, R. J. B. **Introdução ao melhoramento genético de plantas**. Maringá: Eduem, 2009. 275p.

QUEIROGA, V. P.; GIRÃO, E. G.; ALBUQUERQUE, E. M. B. Cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) tecnologias de plantio e utilização. **Ed. A Barriguda**, 2020.

QUEIROZ, D. C. Avaliação de progênies de meio-irmãos e identificação de clones promissores de pinhão-manso por meio de caracteres morfoagronômicos e moleculares. Bahia: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2015. 116p. (Tese – Doutorado em Ciências Agrárias).

RAMOS L. P.; KOTHE V.; CÉSAR-OLIVEIRA M. A. F.; MUNIZ-WYPYCH, A. S.; NAKAGAKI, S.; KRIEGER, N. Biodiesel: matérias-primas, tecnologias de produção e propriedades combustíveis. **Revista virtual de química**, v.9, n.1, p. 317-369, 2017.

RAO, R. C. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York: J. Willey, 1952. 390p.

ROCHA, M. C.; GONÇALVES, S. A.; RODRIGUES, R.; SILVA, P. R. A.; CARMO, M. G. F.; ABBOUD, A. C. S. Uso do algoritmo de Gower na determinação da divergência genética entre acessos de tomateiro do grupo cereja. **Acta Scientiarum**, 32, 3, p. 423-431, 2010.

ROHLF, F. J.; FISHER, D. R. Tests for hierarchical structure in random data sets. **Systematic Biology**, v.17, n.4, p. 407-412, 1968.

SAS INSTITUTE. **SAS Scoring Accelerator 1.5 for Teradata: User's Guide**. SAS institute, 2009.

SCHAFFNER, R. A.; JÚNIOR, E. S.; DAL POZZ, D. M.; SANTOS, R. F.; NEVES, A. C. Obtenção e caracterização de biodiesel de diferentes óleos vegetais. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v.8, n.4, 2019.

SEHGAL D.; RAINA S. N.; DEVARUMATHA, R. M.; SASANUMA, T.; SASAKUMA, T. Nuclear DNA assay in solving issues related to ancestry of the domesticated diploid safflower (*Carthamus tinctorius* L.) and the polyploid (*Carthamus*)

taxa, and phylogenetic and genomic relationships in the genus *Carthamus* L. (Asteraceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 53, p. 631-644, 2009.

SILVA, A. P. **Biodiesel: um panorama sobre o cenário mundial e nacional, com foco em tecnologias e desafios**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2018. 62p. (Dissertação – Graduação em Engenharia de Alimentos).

SILVA, A. R. D.; SILVA, S. A.; SANTOS, L. A. D.; SOUZA, D. R. D.; ARAUJO, G. D. M.; MOREIRA, R. F. C. Genetic divergence among castor bean lines and parental strains using ward's method based on morpho-agronomic descriptors. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 39, p. 307-313, 2017.

SILVA, A. R. **Métodos de agrupamento: avaliação e aplicação ao estudo de divergência genética em acessos de alho**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2012. 83p. (Dissertação – Estatística aplicada e Biometria).

SILVA, C. J.; **Caracterização agrônômica e divergência genética de acessos de cártamo**. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2013. 51p. (Tese - Doutorado em Agricultura).

SILVA, C. J.; DA SILVA, A. C.; ZOZ, T.; TOPPA, E. V. B.; SILVA, P. B.; ZANOTTO, M. I. D. Genetic divergence among accessions of *Carthamus tinctorius* L. by morphoagronomic traits. **African Journal of Agricultural Research**, v.10, p. 4825-4830, 2015.

SINGH, V.; NIMBKAR, N. Safflower (*Carthamus tinctorius* L.), In: SINGH, R, J: Genetic Resources Chromosome Engineering, and Crop Improvement: Oil Crops, **Boca Raton**. v.8. p.168-194, 2007.

SINGH, V; NIMBKAR, N. Safflower (*Carthamus tinctorius* L.), **Genetic resources, chromosome engineering and crop improvement**, p. 49-89. 2006.

SOKAL, R.A.; ROHLF, F.J. The comparison of dendograms by objective methods. **Taxonomy**, v.11, p. 33-40, 1962.

SUDRÉ, C. P.; GONÇALVES, L. S. A.; RODRIGUES, R.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; RIVA-SOUZA, E. M.; BENTO, C. S. Genetic variability in domesticated *Capsicum* spp. as assessed by morphological and agronomic data in mixed statistical analysis. **Genetics and Molecular Research**, v.9, p.283-294, 2010.

VAZ PATTO, M. C.; SATOVIC, Z.; PÊGO, S.; FEVEREIRO, P. Assessing the genetic diversity of Portuguese maize germplasm using microsatellite markers. **Euphytica**, v.137, p.63-72, 2004.

VELASCO, L.; B. PÉREZ-VICH, J. M. FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ. Identification and genetic characterization of a safflower mutant with a modified tocopherol profile. **Plant Breeding**, v.124, n.5, p. 459-463, 2005.

VELLINI, A. L.T. T. **Desempenho e divergência genética entre clones de *Eucalyptus spp.* em diferentes regimes de irrigação em casa de vegetação.** Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. 2007, 104p. (Tese-Doutorado em Agronomia/Genética e Melhoramento de Plantas).

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética Biométrica no Fitomelhoramento.** Ribeirão Preto: Revista Brasileira de Genética, 1992. 496 p.

VIDAL, A. K. F.; DAHER, R. F.; ANDRADE, E. K. V.; FREITAS, R. S.; STIDA, W. F.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; MENEZES, B. D. S. Estimate of genetic diversity in germplasm of elephant grass accessions in Brazil using the Gower algorithm. **Genetics and Molecular Research**. v.20, 2021.

VIEIRA, E. A.; FREITAS F. J.; FALEIRO, F. G.; BELLON, G.; FONSECA, K. G.; SILVA, M. S.; CARVALHO, L. J. C. B. Caracterização fenotípica e molecular de acessos de mandioca de indústria com potencial de adaptação às condições do Cerrado do Brasil Central. **Semina: Ciências Agrárias**, v.34, n.2, p. 567-581, 2013.

WARD JUNIOR, J. H. Hierarchical grouping to optimize an objective function. **Journal of the American Statistical Association**, v.58, p. 236-244, 1963.

WEISS, E. A. **Oilseed crops.** Blackwell Science, 2000.

WEISS, E. A. Safflower. In: **Oilseed Crops.** Longman Group Ltd. Longman House, London, UK, Chapter 6, 1983, p. 216–281.

XAVIER, G. R.; MARTINS, L. M. V.; RUMJANEK, N. G.; FREIRE FILHO, F. R. Variabilidade genética em acessos de caupi analisada por meio de marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, p.353-359, 2005.

ZOZ, T. **Avaliação de genótipos de cártamo quanto ao desempenho agrônomo, divergência genética e produtividade da água.** Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2015. 64p. (Tese -Doutorado em Agronomia).

ZOZ, T. **Correlação e análise de trilha de produtividade em grãos e seus componentes e caracteres de planta em cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) e mamona (*Ricinus communis* L.).** Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2012. 54p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia).
