

**ANA KAROLINA PELEGRINI**



**VARIETADES DE QUIABEIROS COMO MATÉRIA-PRIMA PARA BIODIESEL**

**MESTRADO EM  
BIOENERGIA**

**GUARAPUAVA-PR**

**2022**

**ANA KAROLINA PELEGRINI**

**VARIEDADES DE QUIABEIROS COMO MATÉRIA-PRIMA PARA BIODIESEL**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Bioenergia, área de concentração em Biocombustíveis e Energias Renováveis, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Edson Perez Guerra  
Orientador

Prof. Dr. Juliano Vilela Rezende  
Co-orientador

GUARAPUAVA-PR

2022

Catálogo na Publicação  
Rede de Bibliotecas da Unicentro

P382v Pelegrini, Ana Karolina  
Variedades de quiabeiro como matéria-prima para biodiesel / Ana Karolina Pelegrini. -- Guarapuava, 2022.  
vii, 57 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Bioenergia. Área de Concentração: Biocombustíveis e Energias Renováveis, 2022.

Orientador: Edson Perez Guerra  
Coorientador: Juliano Vilela Rezende  
Banca examinadora: Franciely Ignachewski, Everson do Prado Banczek

Bibliografia

1. Planta oleaginosa. 2. Melhoramento vegetal. 3. Sementes. 4. Rendimento. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Bioenergia.

CDD 633.85



**TERMO DE APROVAÇÃO**

**ANA KAROLINA PELEGRINI**

**“VARIABILIDADE DE QUIABEIROS COMO MATÉRIA-PRIMA PARA PRODUÇÃO  
DE BIODIESEL”**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Bioenergia, área de concentração em Biocombustíveis e Energias Renováveis, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 20 de Dezembro de 2022.

Impressão com recursos padronizados por Daniel da UNICENTRO

PROF. DR. EDSON PEREZ GUERRA

(UNICENTRO)

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> FRANCIELY IGNACHEWSKI

(UNICENTRO)

PROF. DR. EVERSON DO PRADO BANCZEK

(UNICENTRO)

GUARAPUAVA-PR

2022

## *Dedicatória*

Dedico,  
A Deus, toda honra e toda glória.

“Para tudo há um tempo,  
Para cada coisa há um momento  
debaixo do céu”  
Eclesiastes 3:1.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, a Deus, por ter me concedido a graça de chegar até aqui.

Aos meus pais por todo incentivo e amor, e minha irmã Maria por toda ajuda e dedicação.

Ao professor Dr. Juliano Tadeu Vilela de Resende, pela orientação e ajuda.

Ao professor Edson Perez Guerra, por sua dedicação e por não medir esforços e tempo para me orientar e auxiliar.

Ao professor Maico Taras da Cunha e Paulo Roberto da Silva, pelos espaços e equipamentos cedidos para minha pesquisa.

Aos meus amigos, Renato, Carlos, Cristiane e Alessandra, por toda ajuda durante o plantio e colheita do experimento à campo e por todo carinho e amizade.

A professora Cristiane Nardi, por sua amizade e ajuda com o início do mestrado.

Aos amigos que conquistei durante o mestrado, especialmente Cindy e Andressa.

A minha prima Debora que esteve comigo durante o mestrado, compartilhando todas as etapas.

A CAPES pela concessão da bolsa.

E a todos que de maneira direta ou indireta possibilitaram que eu chegasse até aqui.

Obrigada a todos!

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE EQUAÇÕES.....	iv
LISTA DE SIGLAS.....	v
RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	vii
1. INTRODUÇÃO.....	8
2.OBJETIVOS.....	10
3.REVISÃO DE LITERATURA.....	11
3.1. Cultura do quiabo.....	11
3.1.1.Frutificação e colheita.....	11
3.2.Genética do quiabeiro.....	12
3.2.1.Caracterização molecular dos acessos.....	13
3.3.1.Óleo de quiabo.....	16
3.3.2.Obtenção de óleos por extração com solvente.....	18
3.3.3.Índice de acidez.....	19
4. METODOLOGIA.....	20
4.1.Avaliações morfológicas.....	22
4.2.Avaliações moleculares.....	22
4.2.1.Extração e quantificação do DNA.....	23
4.2.2.Seleção de primers ISSR.....	24
4.2.3.Análise da diversidade genética.....	26
4.3.Caracterização físico-química.....	26
4.3.2.Umididade da semente de quiabo.....	29
4.3.3.Índice de acidez.....	29
4.3.4.Neutralização dos óleos.....	29
4.3.5.Espectrometria na região do infravermelho.....	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	31
5.1.Características morfológicas qualitativas e quantitativas.....	31
5.2.Avaliações moleculares genéticas.....	39
5.2.1.Análise da diversidade genética.....	41
5.3.Análises físico-químicas.....	45
5.3.1.Teor de acidez e umidade das sementes.....	45
5.3.2.Neutralização.....	46
5.3.3.Infravermelho do óleo de semente de quiabo.....	46
6. CONCLUSÃO.....	49
7. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTURO.....	49
8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	50

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Diferentes pontos de colheita de flores e frutos.....	12
<b>Figura 2.</b> Semeadura dos genótipos de quiabo em bandejas em casa de vegetação (1A); Quiabeiros com idade fisiológica de 10 dias (1B); Mudanças no campo com sistema de irrigação por gotejamento (1C); Quiabeiro com 30 dias (1D) .....	21
<b>Figura 3.</b> Etiqueta de identificação dos quiabeiros.....	22
<b>Figura 4.</b> Mudanças das variedades de quiabeiro para coleta de folhas de extração de DNA.....	23
<b>Figura 5.</b> Exemplo de um padrão de amplificação do primer ISSR UBC 899 para 42 variedades de quiabeiro.....	24
<b>Figura 6.</b> Fruto de quiabo no ponto de colheita ideal para retirada de sementes.....	27
<b>Figura 7.</b> Sistema de extração de óleo Soxhlet (A). Processo de extração com farelo de semente de quiabo(B).....	28
<b>Figura 8.</b> Processo de recuperação do hexano para obtenção de óleo bruto, por processo de destilação (O AUTOR, 2022) .....	28
<b>Figura 9.</b> Aparelho espectrofotômetro PerkinElmer de infravermelho.....	30
<b>Figura 10.</b> Avaliações qualitativas em relação a cor amarela (A) ou branca (B) das flores. ....	35
<b>Figura 11.</b> Avaliações de caracteres qualitativos: Cor de fruto, tipo de frutos e tamanho de frutos.....	36
<b>Figura 12.</b> Análise de componentes principais envolvendo caracteres morfológicos e de produção de 34 acessosdequiabeiro.....	38
<b>Figura 13.</b> Dendrogramas de 10 genótipos de quiabo obtidos do PCR com 25 primers ISSR que apresentaram amplificação (A) e com os 10 primers selecionados com maior polimorfismo (B). Os valores nas bifurcações dos ramos indicam os valores de bootstrap. A seta indica o único genótipo que teve o posicionamento alterado no dendrograma.....	41
<b>Figura 14.</b> Dendrograma com a relação genética dos 34 genótipos de quiabo obtidos com dados de 88 loci de 10 primers ISSR (inter-semble sequence repeat). A linha pontilhada na vertical indica a similaridade média entre todos os genótipos que foi de 0,50.....	42



<b>Figura 15 .</b> Análise de Coordenadas Principais (PCoA) dos 110 genótipos de quiabo obtidos com dados de 88 loci de 10 primers ISSR (inter-semble sequence repeat). Os círculos indicam as áreas com maior representação do genótipos de cada região estudada.....	47
<b>Figura 16.</b> Distribuição de dois grupos genéticos (k), grupo I em cor escura e grupo II em cor clara, em 34 genótipos de quiabo, oriundos dos estados do Paraná, Santa Catarina e Minas Gerais.....	43
<b>Figura 17.</b> Espectro de infravermelho para o óleo de semente de quiabo.....	46

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Óleo de quiabo comparado a outros óleos comestíveis.....	17
<b>Tabela 2.</b> Nome dos acessos de quiabo do banco de germoplasma da Unicentro, Guarapuava-Pr.....	20
<b>Tabela 3.</b> Análise de variância dos parâmetros quantitativos das variedades de quiabeiro.....	31
<b>Tabela 4.</b> Médias dos caracteres qualitativos de variedades de quiabeiro, Guarapuava-Pr.....	32
<b>Tabela 5.</b> Caracteres qualitativos de variedades de quiabeiro, Guarapuava-Pr.....	34
<b>Tabela 6.</b> Caracteres de produtividade quiabeiro, Guarapuava-Pr.....	36
<b>Tabela 7.</b> Relação dos 25 <i>primers</i> ISSR utilizados com os parâmetros: NF - número de fragmentos amplificados, P % - porcentagem de polimorfismo, PIC - conteúdo de informação polimórfica, RP - poder de resolução, em genótipos de quiabo.....	40
<b>Tabela 8.</b> Espectro de infravermelho para o óleo da sementes de quiabo da variedade 12 (KA 15).....	50

## LISTA DE EQUAÇÕES

<b>Equação 1.</b> Valor de PIC.....	27
<b>Equação 2.</b> Valor de RP.....	27
<b>Equação 3.</b> Índice de acidez (IA).....	31
<b>Equação 4.</b> Índice de peróxido.....	31

## LISTA DE SIGLAS

ABIOVE	Associação Brasileira de Indústrias de Óleos Vegetais
Am	Amarelo
Atl	Altamente piloso
Br	Branco
CC	Cor do Caule
CF	Comprimento da folha
CF	Cor do Fruto
CFR	Comprimento do Fruto
Cil	Cilíndrico
CP	Cor da pétala
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EP	Epicálice
Ext	Externa
FE	Forma do Epicálice
FV	Fonte de Variação
GL	Grau de Liberdade
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
In	Interna
IPGRI	Instituto Internacional de Recursos Genéticos de Plantas
ISSR	Simple Sequence Repeat
Lan	Lanceolado
LE	Largura do Epicálice
LF	Largura da Folha
Li	Linear
LP	Largura do epicálice
Med	Médio Piloso
MME	Ministério de Minas e Energia
MMF	Massa Média Frutos
RF	Rendimento de Frutos
NE	Número de Epicálice
NFP	Número de Frutos por Planta
PC	Pubescência do caule
PCoA	Análise De Coordenadas Principais
PCR	Polymerase Chain Reaction
PIC	Conteúdo de Informações Polimórficas
PNPB	Programa Nacional de Produção e Uso de Biocombustível
Quin	Quinado
Rol	Roliço
RP	Poder de Resolução
RS	Rendimento de Sementes
SE	Segmento do Epicálice
SEAB	Secretaria de Agricultura e do Abastecimento do Paraná
TF	Tipo de Fruto
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean
Vd	Verde
Vd/	Verde e vermelho

## RESUMO

PELEGRINI, Ana Karolina. **Variedades de quiabeiros como matéria-prima para biodiesel**. 2022. Dissertação (Mestrado em Bioenergia) – Universidade Estadual do Centro Oeste, UNICENTRO. Guarapuava -PR. 2022.

A demanda por energia tende a aumentar com o tempo e no Brasil há uma ampla diversidade de espécies vegetais convencionais e não convencionais que podem ser utilizadas como matérias-primas para produção de biocombustíveis. O quiabo (*Abelmoschus esculentus*) é uma planta não convencional que apresenta grande potencial na aplicabilidade de produção de óleo. O objetivo do trabalho foi avaliar a variabilidade de 35 variedades quiabeiros como matéria-prima para produção de biodiesel. Para o estudo de análise genética foram realizadas avaliações morfo-agronômicas e análises moleculares, realizando a extração do óleo com solvente e feito análises físico-químicas. Foram identificados acessos com características determinadas adequadas, tendo um bom desempenho segundo as normas de aplicação. Os genótipos apresentaram moderada diversidade genética e baixa estruturação, evidenciando o potencial genético das variedades, para obtenção de materiais superiores para produção de biocombustível. O teor do óleo encontrado nas sementes de quiabo apresentou em média 16,2%, variando de 13% a 19%. A variedade 12 (KA15) destacou-se com as melhores qualidades para as variáveis analisadas.

**Palavras-Chave:** Planta oleaginosa, melhoramento vegetal, sementes, rendimento.

## ABSTRACT

PELEGRINI, Ana Karolina. **Okra varieties as raw material for biodiesel**. 2022. Dissertação (Mestrado em Bioenergia) – Universidade Estadual do Centro Oeste, UNICENTRO. Guarapuava -PR. 2022.

The demand for energy tends to increase over time and there is a wide diversity of traditional and unconventional plant species in Brazil that can be used as raw materials to biofuel production. Okra (*Abelmoschus esculentus*) is an unconventional plant that has great potential for oil production applicability. The objective of this work was to evaluate the variability of 35 okra varieties as raw material for biodiesel production. For the genetic analysis study, morpho-agronomic estimates and molecular analyzes were carried out, performing oil extraction with solvent and physical-chemical analyses. Accessions with suitable characteristics were identified, having a good performance according to the application norms. The genotypes showed moderate genetic diversity and low structure, showing the genetic potential of the varieties to obtain superior materials for biofuel production. The oil content found in okra seeds averaged 16.2%, ranging from 13% to 19%. Variety 12 (KA 15) stood out with the best qualities for the analyzed variables.

**Keywords:** Oilseed plant, plant breeding, seeds, yield.

## 1. INTRODUÇÃO

O consumo de energia está diretamente ligado à atividade econômica, oferecendo melhores oportunidades de desenvolvimento ao ser humano e melhorando a qualidade de vida da população (DALE e ONG, 2012).

A demanda por energia tende a aumentar à medida que a população humana cresce junto com a expansão da urbanização. Com isso, a produção e o uso de energia aumentam a cada ano para suprir as necessidades humanas. O uso de combustíveis fósseis ainda é o mais empregado na geração de energia, o que é preocupante, pois essas fontes fósseis são limitadas dificultando a demanda necessária por energia e também promovem a poluição do ar, gerando preocupações ambientais, especialmente aos efeitos de mudanças climáticas globais. Além disso, segundo o relatório da Agência Internacional de Energia e das Organizações Mundiais de Saúde, 18 mil pessoas morrem todos os dias vítimas de problemas relacionados à poluição do ar (ATABANI et al., 2013).

As energias renováveis são uma alternativa para suprir a demanda energética mundial. Os produtores mais adequados de bioenergia são os países com recursos de insumos agrícolas e boa diversidade disponíveis de solo e água. Assim, o Brasil um potencial produtor de bioenergia, pois possui esses recursos disponíveis (CHUM et al, 2015).

A bioenergia é a energia gerada através da conversão de qualquer matéria-prima derivada de animais e plantas, como gordura ou óleos vegetais, disponível de forma renovável (MOOSAVI et al., 2018).

Segundo projeções do plano de expansão de energia 2030, espera-se que a capacidade efetiva nacional de produção, divulgados pelo Ministério de Minas e Energia (MME) chegue a 11,5 milhões de m<sup>3</sup>. O Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB), para os próximos anos espera-se que novas tecnologias sejam implementadas e os investimentos atendam à demanda prevista e no ano 2030 estima-se que chegue a 15% de adição de biodiesel ao combustível (MME, 2011).

As matérias-primas utilizadas para produção de biodiesel são classificadas em primeira, segunda e terceira geração. Primeira geração são as derivadas de óleos comestíveis, resíduos e óleos não comestíveis são de segunda geração; e de terceira geração são as microalgas (MOFIJUR et al., 2020).

Entende-se que uma cultura bioenergética ideal deve ter baixo potencial invasivo, alta tolerância ao estresse, crescimento rápido e eficiência no uso de água e nutrientes (KOLE, 2012). Pesquisas sobre fontes alternativas de matéria-prima para a bioenergia podem ajudar a

preencher essa lacuna, como por exemplo, culturas de menor importância alimentar, com alta produção de biomassa e alto teor de óleo. Assim, o quiabo apresenta potencial aplicação na produção bioenergética.

O biodiesel de segunda geração com a intenção de minimizar as desvantagens oriundas do biodiesel de primeira geração, vem sendo estudado e pesquisado, utilizando-se matérias-primas provenientes de óleos não comestíveis. Destaca-se óleo de pongamia, óleo de jatropha, óleo de semente de girassol, sebo, resíduos de óleos de cozinha, entre outros (ANWAR, 2021).

O quiabo (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) é originário do continente Africano e é cultivado em regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo (PATIL et al., 2015). O quiabeiro é uma planta pertencente à família Malvaceae, podendo atingir até três metros de altura, é perene arbustiva, possui ciclo rápido, fácil cultivo, alta rentabilidade, planta de porte ereto e caule semilenhoso. As sementes contêm propriedade de óleo comestível de qualidade (13 a 22%) e proteínas (20 a 24%) com destaque para dois aminoácidos importantes: a lisina e o triptofano (FILGUEIRA, 2000; COSTA et al.; 1891), no entanto quando comparado a soja, algodão e milho é uma cultura de menor importância alimentar, pois não pertence a matriz energética do país.

As sementes de quiabo são retiradas do fruto já seco, são fonte de matéria-prima não convencional com potencial de uso para produção de biodiesel, são ricas em óleo para fins energéticos, variando a composição química das sementes conforme a variedade do quiabeiro e a sua distribuição geográfica (MOTA et al., 2005). A interação do ambiente com a escolha adequada do genótipo é um fator importante para minimizar os custos e maximizar o rendimento do óleo (PANOZZO, 2021).

Na Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO) é mantida uma coleção de acessos de quiabo de diversas regiões do Brasil. O conhecimento genético deste material é de elevada importância para o planejamento de seu uso no melhoramento. Este conhecimento permite quantificar a variabilidade genética e o entendimento da distribuição desta variabilidade nos acessos de diferentes áreas geográficas (KUMAR et al., 2010).

No presente trabalho foi realizado estudo da diversidade genética de variedades de quiabo e avaliação como fonte potencial para a obtenção de biocombustível a partir do óleo das sementes de quiabeiros.



## **2. OBJETIVOS**

### **Objetivo geral:**

Estudar a divergência genética de variedades de quiabo obtidos a partir de sementes oriundas de diferentes regiões do Brasil e avaliar as propriedades físico-químicas do óleo de semente de quiabo para viabilidade como matéria-prima para biodiesel.

### **Objetivos específicos:**

1. Caracterização morfológica das variedades selecionadas;
2. Avaliar a diversidade genética por meio de marcadores moleculares;
3. Avaliar parâmetros produtivos e de rendimento de sementes de 34 acessos de quiabeiro.
4. Extrair óleo de quiabo utilizando solvente orgânico, por sistema de *Soxhlet* e analisar parâmetros físico-químicos do óleo obtido.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Cultura do quiabo

O quiabeiro é uma hortaliça da família Malvaceae, originário da Etiópia na África. Acredita-se que a introdução da cultura no Brasil veio com os escravos africanos, nos navios. É uma planta de ciclo anual, algumas espécies podem medir até 3 metros de altura (SETUBAL, 1997; FILGUEIRA, 2000). A polinização é feita por insetos, com flores hermafroditas, é espécie autógama com frequente alogamia (FILGUEIRA, 2000; ZANIN, 1990).

A espécie *Abelmoschus esculentus* (L) possui sinonímias botânicas com *Hibiscus esculentus* L. e *Hibiscus longifolius* Roxb. Anteriormente incluía-se o quiabeiro como pertencente ao gênero *Hibiscus* e atualmente é *Abelmoschus* (PEDROSA et al., 1983. DUZYAMAN, 1997). O quiabo é o fruto do quiabeiro, constituído por uma cápsula com consistência viscosa e cheia de sementes redondas e brancas, de alto valor alimentício e nutritivo, fonte de fibras, sais minerais, cálcio e vitaminas, dando um aproveitamento completo (PEDROSA et al., 1983). O clima adequado para o desenvolvimento do quiabeiro é o tropical nas temperaturas de 18 a 35 °C. Após 50 a 60 dias de plantio acontece o início da floração, primeiro na haste principal e após três semanas, nas ramificações (ZANIN, 1990).

Os frutos podem variar do tipo cápsula, roliço e piloso, com seção transversal, circular ou pentagonal. A cor varia do branco ao verde-escuro e roxo (FILGUEIRA, 2000; PASSOS et al., 2000; CEAGESP, 2001). As sementes são constituídas de óleos e de proteínas. O teor de óleo em algumas variedades é comparado ao da soja, gergelim e do amendoim.

##### 3.1.1. Frutificação e colheita

A frutificação do quiabeiro acompanha o próprio sistema de crescimento da planta, como mostra a Figura 1. O hábito de crescimento é indeterminado, tem a característica de florescimento, maturação das sementes e frutificação de forma progressiva junto à haste principal e nos ramos laterais ao longo do ciclo (SETÚBAL, 1998).

Com o manejo dos primeiros frutos, a planta tende a induzir a inibição de novas flores e frutos, causando redução no ciclo produtivo. Isso evidencia a alta reação do quiabeiro aos estímulos apresentados durante suas atividades reprodutivas e vegetativas (PERKINS et al., 1952).

A posição dos frutos na planta de quiabeiro influencia diretamente na qualidade das sementes. Verificou-se que os frutos situados em posição mediana na planta apresentam sementes de melhor qualidade germinativa aos de ramificação extrema (PEREIRA, 1975).

A colheita utilizada para o quiabeiro é feita pelo sistema de parcelas, tanto para produção de sementes ao atingirem maturidade fisiológica como para o consumo “in natura”. A semente do quiabeiro é constituída por um tegumento externo, formando uma estrutura complexa constituída de suberina e cutina, variando em espessura e concentração de tegumento. A presença de lignina e gorduras em proporções menores também causam a impermeabilização (ANDERSON et al., 1953).

O momento de maturação dos frutos para produção de sementes de algumas cultivares como: Campinas-2, Santa Cruz 47 e Amarelinho, é de 45 a 55 dias (SETUBAL, 1987), Pereira (1975) mostrou que à medida que a idade dos frutos aumentava surgiam mais quantidades de sementes duras, devido a alteração metabólica da planta, ocorrendo desenvolvimento de um tegumento duro e mais impermeável, envolvendo as sementes. Recomenda-se então que a colheita dos frutos de quiabeiro para uma produção economicamente viável, seja feita parceladamente, dirigida para posição e idade que mais favoreçam a qualidade das sementes.



**Figura 1.** Diferentes fases de desenvolvimento de flores e frutos. Fonte: CANAL DO HORTICULTOR, 2022.

### **3.2. Genética do quiabeiro**

A diversidade e a variabilidade genética são termos para representar a variação genética. Isso pode ser utilizado para demonstrar a soma das informações genéticas conhecidas e potenciais, além das desconhecidas. Isso indica a parte da diversidade genética disponível de uma dada espécie (MORALES et al., 1997).

Recursos genéticos é um conceito criado para destacar que os genes e as informações contidas possuem caráter estratégico, econômico e social (SANTILLI, 2009). Os recursos genéticos para conservação de espécies de animais e vegetais são importantes, a quantificação da diversidade genética vem sendo desenvolvidas e distribuídas entre as populações (CRUZ et

al, 2011).

Identificar os genótipos existentes e estabelecer o nível de diversidade genética é importante pois preserva a vulnerabilidade evitada com a variabilidade, pois a uniformidade genética cria riscos para os cultivos agrícolas (KHAN et al, 2009; SILVA et al., 2001; SANTILLI, 2009).

Populações silvestres e variedades são as principais fontes de germoplasma para as espécies compondo os diferentes complexos genéticos, ou seja, germoplasma é o material que compõe a base da herança transmitindo informações de uma geração para outra (NASS, 2001). A coleta, caracterização e avaliação da diversidade de recursos genéticos é feita por diversos órgãos de pesquisas e por universidades e institutos. A preocupação no Brasil com a coleta desses recursos genéticos de hortaliças é para resgatar a variabilidade de populações (SILVA et al., 2001).

No processo de caracterização genética é feita a identificação de caracteres de alta hereditariedade, onde a expressão genética é pouco influenciada pelas condições ambientais. Essa caracterização é feita por índices agrônômicos, bioquímico e molecular (NASS, 2001). Na caracterização são estudadas as informações que facilitam a distinção de fenótipos em categorias discriminantes e pode-se repetir em condições ambientais variáveis. É especialmente voltada para expressões de herança monogênica com expressão de fenótipos com variações descontínuas. Esses dados auxiliam a identificação botânica do germoplasma, gerindo a organização da coleção (SOUZA et al., 2009).

De acordo com o Bioversity Internacional (2007) são definidos como descritores genéticos, os atributos, caracteres e características mensuráveis observados nos acessos de um banco germoplasma. Acesso genético, é utilizado para quantificar uma amostra de germoplasma que representa uma variação gênica de população ou de um indivíduo de uma espécie (MORALES et al., 1997). O Instituto Internacional de Recursos Genéticos de Plantas (IPGRI) publicou várias listagens de descritores a fim de facilitar e uniformizar atividades de diversas culturas na avaliação e caracterização, investindo na elaboração de listas mínimas de descritores para a caracterização e avaliação de germoplasma (NASS, 2001).

### **3.2.1. Caracterização molecular dos acessos**

O quiabeiro é uma planta de fotoperíodo curto (florescem quando o período iluminado tem menor duração que um determinado número de horas) e modificações climáticas podem alterar a fisiologia de algumas espécies (PEREIRA et al., 1991). Estudos feitos por Padda et al. (1970), Nghah e Graham (1973), Majumder et al. (1974) e Patel e Dallal (1992) mostraram a

magnitude da variabilidade em quiabeiros e os parâmetros pesquisados em geral, consideram que métodos simples de seleção podem levar à obtenção de genótipos superiores.

Rao e Satiyavathi (1977) ressaltam que a influência das variações ambientais afeta diretamente os parâmetros genéticos do quiabeiro e essa ocorrência pode causar erros nas avaliações, dificultando na seleção de um caráter específico. Por isso, segundo Allard (1971) para minimizar esses efeitos, sugere então que os genótipos sejam obtidos de vários ambientes, evitando dessa forma, interações não desejadas, levando-se a estimativas mais confiáveis.

O uso de marcadores moleculares é a ferramenta mais indicada para estudos de variabilidade genética. Inúmeros marcadores estão disponíveis. A escolha de cada um deles depende dos objetivos do estudo e dos recursos disponíveis (MILACH, 1999; BUSO et al., 2003; ALZATE-MARIN et al., 2005; BORÉM e FRITSHE NETO, 2013). Os marcadores Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) desenvolvido por Zietkiewicz et al. (1994) é uma técnica precisa, simples e de baixo custo, onde se amplifica o Ácido Desoxirribonucleico (DNA) por Polymerase Chain Reaction (PCR) utilizando um só *primer* que pareia entre duas regiões de repetição idênticas que se orientam em direções opostas (PRADEEP et al., 2002). Esta técnica permite a exploração das regiões altamente variáveis dos microsatélites sem a necessidade do sequenciamento do genoma (ZIETKIEWICZ et al., 1994; CAIXETA et al., 2006). Este marcador tem sido utilizado para avaliar diversidade genética de culturas, identificação de cultivares e existem estudos mostrando a sua aplicabilidade em diversidade genética de quiabeiros (JONAH et al., 2011; BHATTACHARYA et al., 2010; YUAN et al., 2015).

Na caracterização dos genótipos é estudada as informações que facilitam a distinção de fenótipos em categorias discriminantes e pode-se repetir em condições ambientais variáveis. E especialmente voltada para caracteres de herança monogâmica com expressão de fenótipos com variações descontínuas. Esses dados auxiliam a identificação botânica do germoplasma, gerindo a organização da coleção (SOUZA et. Al., 2009).

A caracterização de variabilidade genética dos acessos de quiabo da coleção da UNICENTRO por meio dos marcadores moleculares ISSR poderá auxiliar no melhoramento genético, permitindo a seleção de genótipos para realização de cruzamentos.

### **3.3. Características de óleos e gorduras vegetais**

Durante muito tempo os óleos e as gorduras foram utilizados pela civilização, desde o início dos primeiros grupamentos humanos, na fabricação de sabão, tintas, como combustível líquido em lamparinas, lubrificantes para engrenagens mecânicas e em sistemas de iluminação. As gorduras, ceras, carotenoides, óleos e esteróis, pertencem à classe de substâncias lipídicas

não solúveis em água, ou seja, são hidrofóbicos. Esses compostos que possuem a presença de cadeias orgânicas com elevado número de carbono, têm em seus componentes ácidos graxos e derivados (RAMALHO e SUAREZ, 2013).

A característica física é o principal aspecto de diferenciação do óleo para gordura. Em temperatura ambiente óleos são líquidos e gorduras sólidas. A combinação de três moléculas de ácidos graxos e uma molécula de glicerol constroem as de triglicerídeos ou triacilgliceróis, os ácidos graxos podem ser de cadeia saturada ou insaturada (ALBUQUERQUE, 2006).

Ácidos graxos são ácidos carboxílicos de cadeia longa. Contém um número par de carbonos e geralmente os ácidos graxos naturais não apresentam ramificação. Diferem entre si pelo número de carbonos e de insaturação. Devido às fortes atrações de Van der Waals, os ácidos graxos se apresentam em forma de cristais. O ponto de fusão aumenta com o aumento da massa molecular e o de ebulição é elevado. Os ácidos graxos insaturados possuem ponto de fusão mais baixos que os saturados devido à configuração *cis* da dupla ligação dos ácidos graxos dispostos em uma curva rígida à cadeia de carbono (SOLOMONS, 2002).

Óleos vegetais são substâncias encontradas em organelas de frutos, grãos oleaginosos, corpos lipídicos ou esferossomos. Com a extração desse material as organelas são fragmentadas e o conteúdo oleaginoso é extraído. Na produção dos biocombustíveis quando utilizado óleos vegetais como matéria-prima, tem-se um poder calorífico elevado, livres de enxofre e ao ser liberado na atmosfera pela combustão diferente dos de origem fóssil não causam chuva ácida (BRAZ, 2011).

Óleos vegetais como de girassol, arroz, oliva, gergelim e soja apresentam baixo teor de triacilglicerídeos saturados e as duplas ligações dos ácidos insaturados apresentam configuração *cis* (MORETTO e FETT, 1998).

A obtenção de óleos vegetais encontrados nas sementes de oleaginosas pode ser pelo processo de prensagem (mecânico), extração por solventes (químico) ou então prensagem-extração por solvente, que é a combinação dos dois. Para uma boa extração há a necessidade de um processo de limpeza e preparação da maioria das sementes oleaginosas. Isso é necessário devido a presença de materiais estranhos. A retirada destes materiais se faz necessária, pois a sua presença pode reduzir o rendimento do óleo e da proteína, comprometendo a qualidade do óleo. Além disso, podem provocar desgaste dos equipamentos. Para facilitar o processo de obtenção do óleo, a trituração das sementes ajuda no rompimento dos tecidos e das paredes celulares pelo aumento da área superficial (O'BRIEN, 2009).

No Brasil a maior parte da produção de óleos vegetais é destinada para o uso alimentar. Segundo dados encontrados no site da Associação Brasileira de Indústrias de Óleos Vegetais

(ABIOVE) há um aumento no processamento, armazenamento e refino do óleo de soja. Aproximadamente um terço do consumo total do óleo de soja é destinado para produção de biodiesel, indústria em crescimento no país. A matéria-prima do óleo de soja contribui com 75 a 80% para produção de biodiesel, gorduras de origem animal 12-15% seguida pelo óleo de algodão 3 a 5% e o restante inclui outras culturas (ABIOVE, 2021).

Conforme à lei 11.097/2005 estabelecida, instituiu a adição do biodiesel ao diesel, aumentando a demanda de produção do biodiesel. O Conselho Nacional de Política Energética (CNPE), determinou a adição de 10% de biodiesel ao óleo com obrigatoriedade até março de 2023 (BRASIL, 2022).

### **3.3.1. Óleo de quiabo**

No estado do Paraná nos anos de 2007 a 2017 a produção de hortaliças cresceu 80%. A produtividade média de quiabo no Brasil é de 15 a 22 toneladas por hectare, segundo dados da Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Paraná (SEAB) (SEAB, 2021).

O município de Uraí no norte do estado do Paraná no ano de 2020 foi o maior produtor do estado produzindo 594 toneladas de quiabo (SEAB, 2021).

Segundo dados disponibilizados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) no ano de 2006 foram produzidas 116.990 toneladas de quiabo. Apenas 15.021 toneladas dessa produção foram utilizadas para fins alimentícios, outra parte distribuiu-se para outros fins (alimentação animal, beneficiamento e transformação vegetal). Parte das sementes colhidas são distribuídas para plântulas e regeneração e grande quantidade são descartadas, classificando-se como impróprias para produção de mudas (ADELAKUN et al., 2009).

O quiabo em vários estudos, mostrou-se uma planta com inúmeras aplicabilidades de todas as suas partes, tornando-se potencialmente útil e justificando o seu cultivo. O fruto imaturo possui propriedades terapêuticas e medicinais. A vagem produz uma mucilagem com alto teor de fibras, podendo ser utilizada para produção de sacos e cordas e utilizado também para fins de lubrificação e produção de biogás. Do tronco, fabrica-se papel (WATT, 1908; MARTIN, 1982; DAHIYA E VASUDEVAN, 1987).

Quando comparado a oleaginosas como soja, gergelim e amendoim, o teor de óleo nas sementes de quiabo de algumas variedades é semelhante. Segundo Jarret et al (2011) em seus estudos compararam seis espécies de quiabo que mostraram uma variação entre 2,51 a 23,2 % no teor de óleo. As sementes apresentam em sua composição polifenólicos, como catequinas oligoméricas e derivados de flavonóides (ARAPITSAS, 2008).

A composição química dos óleos vegetais em relação aos teores de ácidos graxos, é

importante para determinar o seu uso. Um exemplo, é o óleo de girassol que apresenta baixa quantidade de ácidos graxos saturados, indicado para dietas com objetivo de reduzir colesterol (JARRET et al., 2011).

A Tabela 1 apresenta dados comparativos para o óleo extraído do quiabo, em relação a outras matérias-primas. No óleo de quiabo, há maior quantidade de ácidos graxos insaturados, principalmente o ácido linoleico, que quando separado dos demais ácidos, como o palmítico, pode ser utilizado pela indústria para produção de resinas, corantes e plásticos. Também é composto por ácido palmítico, matéria-prima para sabonetes, ésteres e plastificantes. Ao comparar com o óleo de algodão, por exemplo, o óleo de quiabo possui similaridade, quanto ao conteúdo dos ácidos graxos (CAMCIUC, 1998).

**Tabela 1.** Concentração de ácidos graxos no óleo de quiabo e de outros óleos comestíveis.

Ácidos graxos	Concentração de ácidos graxos no óleo (%)				
	Algodão	Soja	Milho	Girassol	Quiabo
Palmítico (C16:0)	17,0-31,0	7,0-14	9,0-14,0	3,0-10	29,5-32,5
Oléico (C18:1)	13,0-44	19,0-30	24,0-42,0	14,0-35,0	16,1-31,1
Linoléico (C18:2)	33,0-59,0	44,0-62,0	34,0-62,0	55,0-75,0	29,9-47,4
Linolênico (C18:3)	-	0,8	0,1	-	0,38-1,2

Fonte: HOLSERA e BOST (2004).

Segundo Holsera e Bost (2004) a composição de ácidos graxos no óleo de quiabo apresenta cerca de 11,8 a 22,1% em variedades híbridas e de 8,9 a 29,5% em espécies nativas.

Quanto aos aspectos térmicos e oxidativos, a composição do óleo de quiabo apresenta dualidade em suas características, predominando ácidos graxos insaturados, tornando-o mais susceptível à oxidação. No entanto, há uma quantidade significativa de compostos polifenólicos, que promovem ações antioxidante (SHUI e PENG, 2004).

O biodiesel produzido com óleo de sementes de quiabo, por rota metálica avaliado com o objetivo de estabelecer as propriedades combustíveis. Segundo Anwar et al. (2010) em seus estudos o óleo das sementes de quiabo apresentou parâmetros importantes quanto ao ponto de fulgor, viscosidade cinética, número de cetano, estabilidade oxidativa, lubrificidade, conteúdo de enxofre, acidez e propriedades de fluxo de frio, constatou-se que o óleo das sementes de quiabo é uma fonte boa de matéria-prima para produção de biodiesel. O biodiesel etílico de quiabo apresentou uma viscosidade cinética de  $4,72 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$ , a especificação exige de  $3,0$  a  $6,0 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$ , uma redução na reação do processo de síntese de  $31,09 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$ , a relação está na quantidade de cadeias de ácidos graxos insaturados de oléicos e linoléicos, presentes na



composição desse biodiesel (PONTES, 2010). Para os valores relacionados a fluidez, ponto de névoa e ponto de entupimento de filtro a frio, o biodiesel de óleo de quiabo tem a composição graxa semelhante ao biodiesel de algodão (RASHID et al., 2009), esses valores estão ligados aos componentes de graxos saturados que influenciam na quantidade elevada de palmitato, sendo eles os ésteres etílicos saturados que interagindo com as suas cadeias pode acontecer a nucleação e depois em consequências das baixas temperaturas, em contato com a circulação do combustível pelos filtros e sistemas de alimentação na partida do motor. O fator de presença de ácidos graxos interfere nos parâmetros de fluxo a frio do biodiesel, sendo a composição graxa do óleo um fator que predomina, principalmente na presença de ésteres alquílicos (CARDOSO, et al., 2006). A utilização do processo de resfriamento lento do biodiesel, processos que melhorem essas propriedades, em que ésteres saturados podem ser cristalizados e separados da mistura pela diferença de fase (DUNN et al., 1996). No entanto, esse procedimento pode ser desvantajoso pelo aumento do percentual de ésteres insaturados no biodiesel, causando processos de oxidação, tendo como uma alternativa a utilização da adição de aditivos, com propriedades que retardam ou modificam a cristalização dos componentes parafínicos do biodiesel, levando a uma melhoria das propriedades de fluxo (SILVA et al., 2004). O biodiesel de quiabo apresenta uma propriedade de fluxo a frio alta, segundo os valores especificados pela ANP não necessitando dos processos citados anteriormente.

A estabilidade oxidativa encontrada através dos métodos de oxidação acelerado Rancimat, foi elevada, levando em consideração o perfil de ácidos graxos de 65, 42% de ésteres insaturados, período de indução de 7, 54 horas (CALIXTRO, 2011)

### **3.3.2. Obtenção de óleos por extração com solvente**

Óleos e gorduras ficam armazenados em tecidos especializados nas espécies animais e vegetais, como sementes, polpa de frutos, peles e ossos e em organelas de microorganismos. O processo de extração da substância graxa está diretamente ligado com a fonte oleaginosa. Os processos de extração comumente usados são a prensagem mecânica, extração à solvente ou autoclavagem, são operações unitárias básicas envolvidas na extração. Portanto, após o óleo ser obtido deve passar por um processo de purificação ajustando suas propriedades físico-químicas. O hexano é o solvente mais utilizado da classe para o processo de extração por sua maior acessibilidade, menor custo e baixo ponto de ebulição, diminuindo a decomposição do material graxo. O óleo no solvente pode se solubilizar por dois procedimentos: por dissolução de simples contato entre as células vegetais desintegrados durante a moagem, ou por difusão facilitada, em que o óleo atravessa lentamente as paredes celulares semipermeáveis das células que estão

intactas no meio líquido. O resultado é chamado de óleo bruto, necessitando do processo de refinamento para retirada de impurezas, antes da utilização para consumo alimentar ou matéria-prima para o biodiesel (RAMALHO e SUAREZ, 2013).

O conhecimento das propriedades termo físicas dos óleos vegetais é fundamental independente da obtenção ou utilização. Para especificação dos produtos ou processamento dos biocombustíveis, conhecimentos de estabilidade oxidativa e densidade relativa são importantes, sendo os parâmetros de avaliação da textura e caracterização são etapas essenciais. Essas medidas detectam fraudes ou adulterações no produto (BROCK et al., 2008).

As moléculas grandes dos triglicerídeos existentes nos óleos vegetais resultam na alta viscosidade, baixa volatilidade e alta densidade, comparando com o óleo diesel. No entanto, leva à baixa atomização de combustível, pelo tamanho das gotas após injeção no cilindro e altas taxas de injeção do óleo na forma de *spray*. A carbonização e queima da cabeça do injetor são problemas diretamente associados. O papel da densidade e viscosidade é parte importante do processo de combustão, influencia na queima incompleta do combustível, na eficiência do motor e emissões de gases liberados (ESTEBAN, 2012).

### **3.3.3. Índice de acidez**

O teor de acidez pode ser medido pela quantidade de ácidos graxos livres presentes nos óleos vegetais, ou seja, a quantidade em mg de hidróxido de potássio necessária para neutralizar os ácidos graxos livres, presentes em 1g de óleo que torna neutro os ácidos graxos livres presentes em 1 grama de óleo ou gordura. Alguns fatores podem influenciar diretamente na acidez de um óleo vegetal: armazenamento das sementes e a colheita. O indicativo de acidez é um fator avaliativo de qualidade da matéria-prima e condições de conservação (ALMEIDA et al., 2011).

Na presença de luz o processo de decomposição dos triglicerídeos é acelerado pelo aquecimento vindo da luz, na liberação dos ácidos graxos acontece a rancidez, essa acidez torna o óleo impróprio para usos alimentícios e carburantes. Elevados índices de acidez levam à corrosão de peças metálicas do motor, catalisam reações intermoleculares dos triacilgliceróis e afetam a estabilidade térmica do combustível na câmara de combustão (DANTAS, 2006; ZENI, 2010).

Modificações químicas podem ocorrer com os lipídios durante o armazenamento levando à rancidez hidrolítica ou enzimática. Rancidez hidrolítica é resultado de uma hidrólise da ligação de éster por lípase ou umidade e a enzimática é o processo biológico dos óleos e gorduras com produção de ácidos graxos livres formado pelas enzimas lípases, tendo origem

bacteriana, que podem até mesmo estar presente nas sementes oleaginosas (OSAWA et al., 2006).

O aumento de acidez pode ser originado pelos triglicerídeos via hidrólises enzimáticas e não enzimáticas. A predisposição à oxidação acontece pela presença de moléculas de cadeias insaturadas de triglicerídeos (SILVA et al., 1999).

A importância do monitoramento da acidez em biodiesel acontece durante a estocagem, a alteração acontece pela presença de água que reduz a qualidade dele. Para medição da acidez recomenda-se o método EM 14214, solução alcoólica de éter e etanol, com KOH, hidróxido de potássio como titulante e fenolftaleína como indicador. O limite estabelecido para acidez é de 0,5 mg de KOH/g para biodiesel (ALMEIDA et al., 2011).

#### 4. METODOLOGIA

Os materiais utilizados para o experimento foram selecionados do banco de germoplasma da Universidade Estadual do Centro-Oeste que contém 43 acessos. Neste trabalho foram avaliadas 34 variedades de quiabo oriundos dos estados de Santa Catarina, Paraná e Minas Gerais (Tabela 2).

**Tabela 2.** Relação dos acessos de quiabo do banco de germoplasma da Unicentro, Guarapuava.

Trat	Acesso	Trat	Acesso	Trat	Acesso	Trat	Acesso
1	KA 01	10	KA 13	19	KA 22	28	KA 34
2	KA 02	11	KA 14	20	KA 23	29	KA 38
3	KA 03	12	KA 15	21	KA 24	30	KA 39
4	KA 04	13	KA 16	22	KA 25	31	KA 40
5	KA 06	14	KA 17	23	KA 27	32	KA 41
6	KA 07	15	KA 18	24	KA 28	33	KA 42
7	KA 08	16	KA 19	25	KA 29	34	KA 43
8	KA 09	17	KA 20	26	KA 30	-	-
9	KA 12	18	KA 21	27	KA 32	-	-

Trat.- tratamento.

O experimento a campo foi conduzido nas dependências da Universidade Estadual do Centro-Oeste, localizado no município de Guarapuava-PR (Latitude: -25.3935, Longitude: -51.4562.), o tipo de solo foi caracterizado como latossolo bruno (IAPAR, 1986) com clima Moderado, subtropical, úmido. A temperatura média anual é de 16,8°C. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com três repetições e 10 plantas por parcela experimental, num total de 1040 plantas cultivadas.

Primeiramente, foram coletadas 50 sementes de cada acesso de quiabo, semeadas em 20

bandejas de 200 células contendo substrato comercial Vivato® (Figura 2A), mantidas em casa de vegetação em estufa plástica com temperatura variando de 18 a 28 °C e irrigadas três vezes ao dia (Figura 2B). A semeadura nas bandejas foi feita no dia 30 de setembro de 2019.

Após 25 dias da semeadura, as plantas foram levadas ao campo. Os canteiros utilizados mediam 2,5 x 18 metros e cada parcela 0,6 x 2,5 metros, realizando plantio em sulcos. O manejo da área foi realizado 60 dias antes do plantio com gradagem, calagem e adubação. A correção do solo foi feita pela aplicação de 200 g de calcário m<sup>-2</sup> (EMBRAPA), aragem com profundidade de 25 a 30 cm e posterior gradagem.

Foi utilizado sistema de irrigação por gotejamento da fase inicial de plantio até a fase de floração das plantas (Figuras 2C e 2D). As plantas foram etiquetadas com o nome de cada acesso para as avaliações (Figura 3).

Foram realizadas as práticas de manejo, como controle de pragas, doenças e plantas daninhas, recomendadas para a cultura do quiabeiro segundo Filgueira (2013).



**Figura 2.** Semeadura dos genótipos de quiabo em bandejas em casa de vegetação (1A); quiabeiros com idade fisiológica de 10 dias (1B); mudas no campo com sistema de irrigação por gotejamento (1C); quiabeiro com 30 dias (1D). Fonte: O Autor, 2019.

#### 4.1. Avaliações morfológicas

As avaliações morfológicas qualitativas de pubescência do caule e cor do caule e as quantitativas de altura da planta foram executadas após o florescimento das plantas. Para as avaliações quantitativas de número de segmento do epicálice, comprimento do epicálice, número de segmentos do estigma e comprimento da folha, foram coletadas uma amostra de cada planta do campo e avaliadas em laboratório.

A caracterização morfológica de genótipos de quiabeiro é importante para um aproveitamento das características ligadas com a produtividade (PEDROSA et al., 1983)

Para a caracterização dos descritores foi utilizada a lista do IPGRI segundo Charrier (1984) e as análises de dados feita pelo programa Genes (Cruz, 1997).

As variáveis de avaliação quantitativa foram: número de epicálice (NE), Epicálice (mm) (EP), Largura do epicálice (LE), Segmento do epicálice (SE), Comprimento da folha (cm) (CP), Largura da folha (cm) (LF) e o Comprimento do fruto (cm) (CF).



**Figura 3.** Etiqueta de identificação dos quiabeiros. Fonte: O autor, 2019.

#### 4.2. Avaliações moleculares

As avaliações moleculares foram realizadas com 42 variedades de quiabo oriundos do banco do germoplasma da UNICENTRO. Para obtenção do material vegetal para extração do DNA, três sementes de cada genótipo foram semeadas em batedeiras de isopor com 96 células preenchidas com terra vegetal e mantidas em estufa plástica. Após 20 dias (Figura 4), as plântulas foram conduzidas até o laboratório para extração de DNA.



**Figura 4.** Mudas de variedades de quiabo para coleta de folhas para extração de DNA.

Fonte: O Autor, 2021.

#### **4.2.1. Extração e quantificação do DNA**

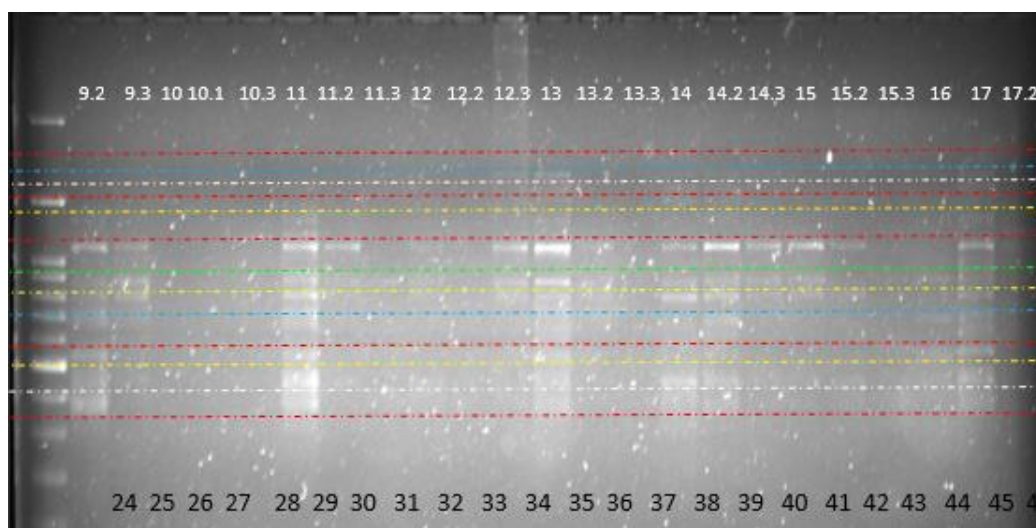
Para extração do DNA as folhas foram trituradas com auxílio de nitrogênio líquido até obtenção de um pó bem fino, 100 mg deste pó de tecido foram transferidos para um microtubo de 1,5 ml. O protocolo utilizado foi o descrito por DOYLE e DOYLE (1987). No tecido vegetal triturado foram acrescentados: 700  $\mu\text{L}$  de tampão de extração, 20 mM de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA); 0,1 mol.  $\text{L}^{-1}$  de ácido clorídrico (Tris-HCl) pH 8,0; 1,4 mol. $\text{L}^{-1}$  de cloreto de sódio (Na Cl); 2% de brometo de cetrimônio (CTAB); 2% de polivinilpirrolidona (PVP); e 2% de  $\beta$ - Mercaptoetanol. Após incubação em banho-maria por 45 min a 65°C, nos tubos foi acrescentado clorofórmio-álcoolisoamílico (24:1) e centrifugado por 10 minutos a 12.000 RPM, por duas vezes. O DNA foi precipitado com 700  $\mu\text{L}$  de isopropanol, centrifugado por 10 minutos a 12.000 RPM, seguidas de diversas lavagens com etanol gelado 99% e 75%, para a obtenção de amostras livres de contaminantes. Depois de seco o DNA foi ressuspenso em 200  $\mu\text{L}$  de água ultrapura, tratado com RNase a 10 mg  $\text{mL}^{-1}$  a 37 °C por 1 hora. Após, o DNA foi precipitado com 10  $\mu\text{L}$  de acetato de sódio 3 mol.  $\text{L}^{-1}$  e 200  $\mu\text{L}$  de etanol 99% gelado e realizadas sucessivas centrifugações e lavagens com etanol. Depois de seco o DNA foi ressuspenso em água ultrapura e armazenado a -20°C até o momento da utilização. As amostras foram quantificadas por eletroforese em gel de agarose 0,9% (polissacarídeo neutro extraído da parede celular de algas, que permite a passagem das moléculas, atuando como peneiras moleculares, fornecendo as condições ideais para a realização da eletroforese) e coradas com brometo de etídio (0,5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), utilizando como padrão quantidades conhecidas do DNA do Fago  $\lambda$  (50; 100; 200 e 400 ng).

#### 4.2.2. Seleção de primers ISSR

Para seleção dos melhores primers ISSR para estudos genéticos em quiabo, inicialmente foram avaliados 42 primers desenvolvidos pela *University of British Columbia* (UBC), Vancouver, Canadá (Tabela 1) em 10 variedades selecionadas dentre as 42. As reações de amplificação do DNA de cada genótipo via PCR, foram conduzidas em volume final de 12,5  $\mu\text{L}$  contendo 20 ng de DNA, 0,2  $\mu\text{M}$  de *primer*, 200  $\mu\text{M}$  de cada dNTP, 1,5 mM de  $\text{MgCl}_2$  e 1 U de TaqDNA Polimerase, tampão para PCR 1 $\times$  e água ultrapura para completar o volume. O termociclador foi programado com um passo inicial de desnaturação do DNA a 94  $^\circ\text{C}$  por 5 minutos, seguido de 35 ciclos a 90  $^\circ\text{C}$  por 45 segundos, temperatura de pareamento dos *primers* (Tabela 4) por 30 segundos e 72  $^\circ\text{C}$  por 60 segundos. Após os ciclos, um passo final de 72  $^\circ\text{C}$  por 10 minutos foi adicionado para extensão final dos fragmentos.

Os produtos da amplificação foram visualizados em gel de agarose 1,8% corados com brometo de etídio (0,5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Para determinação do tamanho dos fragmentos amplificados foi utilizado o marcador de peso molecular DNA Ladder 100 pb. O resultado da eletroforese foi visualizado em luz ultravioleta e fotodocumentado com sistema digital.

Cada loco amplificado foi analisado de acordo com a presença (1) ou ausência (0) da banda. A porcentagem de polimorfismo foi calculada para cada *primer* dividindo o número de fragmentos polimórficos pelo número total de fragmentos amplificados.



**Figura 5.** Exemplo de um padrão de amplificação do *primer* ISSR UBC 899 para 42 variedades de quiabeiro. Fonte: O autor, 2021.

Para identificar os melhores *primers* ISSR para quiabo, foram calculados os valores de conteúdo de informação polimórfica (PIC) e o poder de resolução (RP) para cada primer. O valor de PIC representa a probabilidade de encontrar um marcador genético nas bandas, ou seja, nos estados de presença ou ausência no gel de agarose, como mostra a figura 5. Para marcadores dominantes os valores de PIC tem uma variação de zero até 0,50, em marcadores monomórficos. Sendo assim, quanto mais próximos de 0,50 maior é a eficiência do marcador para determinar a variabilidade genética (ANDERSON et al., 1993 e ROLDAN-RUIZ et al., 2000).

De acordo com Prevost e Wilkinson (1999), o valor de RP do primer representa um índice que caracteriza o seu potencial discriminatório, ou seja, capacidade de separar genótipos de um determinado grupo. Nesse caso, os *primers* são classificados conforme os maiores valores de RP, apresentando assim maior capacidade de discriminar genótipos.

Os valores de PIC foram calculados de acordo com Roldan-Ruiz et al. (2000), pela seguinte equação:

$$PIC_i = 2 f_i(1-f_i)$$

onde

$f_i$  = frequência dos fragmentos presentes no marcador no mesmo *locus*

$1-f_i$  = frequência de fragmentos ausentes no marcador no mesmo *locus*

O RP de cada *primer* foi calculado de acordo com Prevost e Wilkinson (1999):

$$RP = \sum l_b$$

onde

$l_b = 1 - [ 2 \times | 0,5 - p | ]$ , sendo:

$p$  = proporção de genótipos que contém a banda.

Para a seleção dos melhores *primers* para estudos em quiabo foram considerados os valores de PIC e RP e a qualidade da amplificação. Dos 42 primers, 25 apresentaram produto de amplificação e destes, 10 foram selecionados com base no índice genético (PIC e RP). Podem ser dominantes (0- 0,5) ou co-dominantes (0-1) e também, a seleção levou em consideração a quantificação das bandas amplificadas e qualidade do gel (quanto maior a banda, maior chance de identificar os indivíduos).

Para avaliar a robustez dos *primers* ISSR selecionados, foi estimada a variabilidade genética e desenhado o dendrograma das 10 variedades de quiabo.

O agrupamento dos genótipos, com base no coeficiente de similaridade de Jaccard, foi obtido pelo método Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA)



utilizando o software NTSYS 2.2 (Numerical Taxonomy Analyses System) (ROHLF, 2008). A robustez dos 10 *primers* considerados melhores foi avaliada por análise comparativa entre o agrupamento dos genótipos de quiabo obtidos com estes *primers* e os agrupamentos obtidos com todos os *primers*. Também, para cada conjunto de primers foi determinada a similaridade genética média entre os genótipos de quiabo.

#### **4.2.3. Análise da diversidade genética**

Utilizando os 10 primers selecionados, conforme descrito acima, o DNA das 42 variedades de quiabo foi amplificado individualmente. A PCR, eletroforese e leitura dos géis foram conduzidas conforme descrita para a etapa de seleção de primers.

O índice de Shannon, calculado para quantificar a diversidade genética dos genótipos em estudo, foi obtido utilizando o programa PopGene versão 1.32 (YEH; YANG e BOYLE, 1999). O dendrograma da relação genética entre as 10 variedades foi obtido conforme descrito na etapa de seleção de primers. A análise de Coordenadas Principais (PCoA) foi realizada no software GenAlex (PEAKALL e SMOUSE, 2012). A análise Bayesiana, para obtenção de cluster (grupos genéticos) foi feita com o auxílio do *software* STRUCTURE (PRITCHARDA et al., 2010). Para determinação do número ideal de clusters (K) foram feitas simulações partindo do pressuposto que é possível a obtenção de qualquer número de clusters de 1 a 10, onde cada simulação foi repetida 10 vezes. Para esta análise foi usado o modelo de ascendência sem mistura e as frequências alélicas foram correlacionadas por 1000 *burn-in* e 10000 MCMC (Markov Chain Monte Carlo) repetições após o *burn-in*. Para determinação do K (número de grupos genéticos-clusters) mais provável em relação aos indicados pela análise, foram utilizados os critérios sugeridos por Evanno et al. (2005), com o auxílio do programa Structure Harvester (EARL, 2012).

#### **4.3. Caracterização físico-química**

Os materiais usados para extração e caracterização do óleo foram utilizados do banco de sementes colhidas do experimento. Foram avaliadas 10 variedades selecionadas, baseados nos critérios de escolha: (i) por região, sendo três de Santa Catarina, três do Paraná, três de Minas Gerais, incluindo-se o 12 que apresentou melhores características segundo análise morfológica; (ii) e levando-se em consideração o resultado das avaliações moleculares.

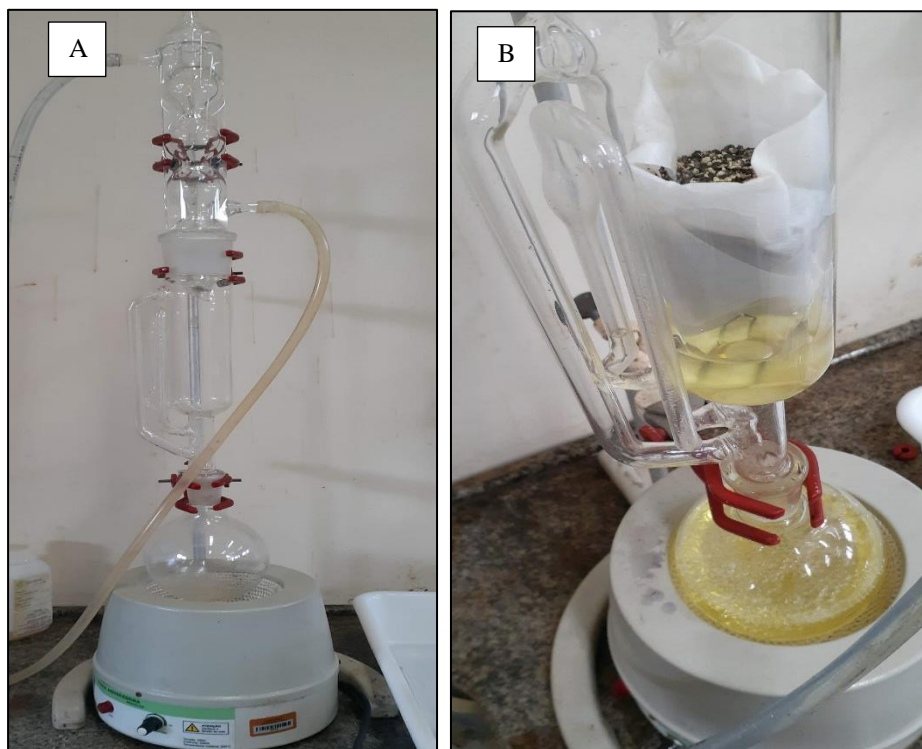


**Figura 6.** Fruto de quiabo no ponto de colheita ideal para retirada de sementes. Fonte: O Autor, 2019.

#### **4.3.1. Processo de extração do óleo**

Para a obtenção do rendimento dos óleos, cada amostra de sementes (Figura 6) foi submetida à secagem em estufa de circulação de ar com temperatura de 60°C por 24 horas. Após esse procedimento 200g de sementes foram trituradas com auxílio de um liquidificador até formação de um farelo. Esse procedimento é necessário para o rompimento dos tecidos e das paredes celulares da semente para facilitar da saída do óleo.

O processo utilizado foi de extração contínua com solvente, hexano. Pesou-se 50g de farelo, colocados em papel filtro no sistema de extração *Soxhlet* (figura 7A e 7B), com 300 ml de hexano, aquecido a 60°C por aproximadamente uma hora, até completar-se um ciclo (MORETTO, 1998).



**Figura 7.** Sistema de extração Soxhlet de extração de óleo (A) e processo de extração com sementes de quiabo (B). Fonte: O autor, 2021.

Após a extração com solvente, as amostras passaram pelo sistema de destilação fracionada (Figura 8), para recuperação do solvente. O sistema era formado por uma manta térmica aquecida a 60°C para obtenção do óleo.

O óleo extraído foi armazenado em frascos âmbar e mantidos sob refrigeração até o momento de uso para as avaliações.



**Figura 8.** Processo de recuperação do hexano para obtenção do óleo bruto, por processo de destilação. Fonte: O Autor, 2022.

#### 4.3.2. Umidade da semente de quiabo

O peso da água foi removido das sementes durante a sua permanência na estufa de circulação de ar por 24 h com temperatura de 60°, para secagem. Utilizou-se uma balança de precisão eletrônica semi-analítica para pesagem das sementes. Cada amostra foi pesada com o auxílio de um recipiente de vidro. A taxa de umidade foi calculada pela diferença entre o peso inicial e final das amostras. Este valor foi expresso em porcentagem.

A porcentagem de umidade foi calculada com base no peso úmido, aplicando-se a seguinte fórmula:

$$\% \text{ Umidade (U)} = 100 \frac{(P-p)}{P-t}$$

Onde:

P = peso inicial, peso do recipiente e sua tampa mais o peso da semente úmida;

p = peso final, peso do recipiente e sua tampa mais o peso da semente seca;

t = tara, peso do recipiente com sua tampa.

A determinação da massa específica do óleo foi realizada no densímetro digital (Eraspec). O conhecimento das propriedades termo físicas (densidade) é importante para especificação do produto (BROCK et al., 2008).

#### 4.3.3. Índice de acidez

O método para determinar a acidez foi o NBR 11115 da ABNT<sup>80</sup>. Mediu-se 2g do óleo em *erlenmeyer* e foi adicionado 17g de etanol, para que a amostra fosse solubilizada. O Indicador de acidez foi fenolftaleína com duas gotas adicionadas e titulou-se com solução de KOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> até atingir a coloração rósea. O índice de acidez (IA) foi calculado pela Equação:

$$\text{Índice de acidez (mg KOH g}^{-1}\text{)} = V \times M \times fc \times MM / m$$

Na qual:

V = volume de KOH gasto em mL. M = molaridade da solução de KOH.

fc = fator de correção da solução de KOH. MM = Massa Molar de KOH.

m = massa da amostra, em gramas.

#### 4.3.4. Neutralização dos óleos

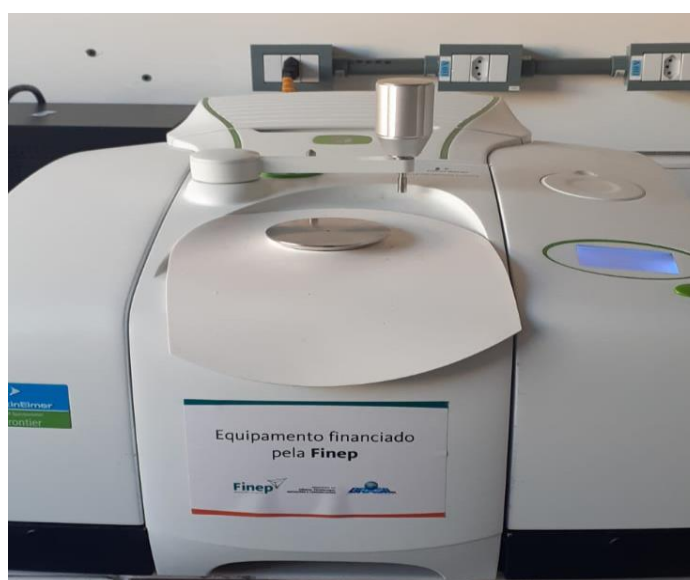
Através do índice de acidez acima de 1 mg KOH g<sup>-1</sup> foi realizado o processo de neutralização, proposto por Moretto (1998).

Para esse procedimento, uma solução de hidróxido de sódio a 12% foi utilizada, com quantidade proporcional em volume a 15 % da massa do óleo. O processo de neutralização foi feito pela adição de solução de hidróxido de potássio 0,1 N gramas da amostra, titulada com solução KOH 0,1 N, com presença de indicador fenolftaleína até mudar a coloração. A mistura foi mantida em agitação constante e após 30 minutos, aquecida sob agitação lenta a 55°C, para quebrar a emulsão formada. A mistura foi filtrada a vácuo para separar as fases (óleo- borra). O óleo resultante foi lavado com água a uma temperatura de 50°C, em seguida secado em estufa.

#### 4.3.5. Espectrometria na região do infravermelho

As análises de infravermelho, para obter informações sobre a estrutura dos óleos, foram feitas com cinco variedades selecionadas: 12, 19 e 34 de Minas Gerais, 29 do Paraná e 32 de Santa Catarina (Tabela 2). Para critério de escolha levou-se em consideração a variedade 12 que teve o melhor destaque nas avaliações morfológicas, as demais foram selecionadas por região para avaliar se havia diferenciação conforme a localização.

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram realizadas em espectrofotômetro (Figura 9) PerkinElmer modelo FTIR Frontier Class 1, Laser Product da marca Shimadzu. A análise foi realizada na região de 4.000 a 650 nm utilizando acessório ATR de uma reflexão com prisma de ZnSe, na resolução de 4 cm<sup>-1</sup>.



**Figura 9.** Aparelho espectrofotômetro PerkinElmer de infravermelho. Fonte: O autor, 2022.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1. Características morfológicas qualitativas e quantitativas

A variabilidade entre os acessos pode estar relacionada à ampla distribuição geográfica dos acessos que foram encontrados em três estados brasileiros, no Paraná, Minas Gerais e Santa Catarina. Segundo Borém e Mirando (2013) a variabilidade gerada pela combinação de genitores, para plantas autógamas pode ser utilizada para conduzir populações segregantes, extraíndo linhagens avançadas.

O quiabeiro é uma planta autógama e dois métodos podem ser utilizados para o seu melhoramento: métodos de autopolinização; ou de exploração de heterose. Em ambos os casos é preciso a seleção das melhores plantas genitoras, para permitir melhor seleção (ELMAKSOU et al., 1986).

No Brasil a maior parte da produção do quiabeiro é feita por pequenos agricultores, que costumam armazenar as sementes para próxima safra, geração após geração. Parte dessas sementes é vendida ou trocada com outros agricultores da região. Provavelmente essa dispersão da variabilidade genética é influenciada pelos agricultores (KUMAR et al, 2010). Para os descritores morfoagronômicos quantitativos, a significância ( $p < 0,05$ ) foi detectada pelo desvio análise para todas as características avaliadas (Tabela 3).

**Tabela 3:** Análise da variância dos parâmetros quantitativos das variedades de quiabeiro.

FV	GL	NE	EP	LE	AP	SE	CF	LF	CFR
Blocos	2	0,63	2,87	1,30	16,33	3,54	10,24	32,80	30,64
Trat	33	1,29	1,79	2,40	49,94	1,29	84,26 **	81,67 **	39,85 **
Res	66	0,92	1,88	1,51	39,95	1,21	36,04	27,73	15,45
Total	101								
Média		8,27	1,67	3,44	24,46	5,92	19,66	12,36	19,09
CV (%)		11,60	81,91	35,70	25,84	18,54	30,54	42,59	20,59

FV: Fonte de variação; GL: grau de liberdade; NE- número de epicálice; EP- Epicálice (mm); LE- Largura do epicálice; AP- altura da planta; SE- Segmento do epicálice; CF- Comprimento da folha (cm); LF- Largura da folha (cm); CFR- Comprimento do fruto (cm); CV (%): coeficiente de variação; \*\*Altamente significativo.

Para a maioria das características não houve diferença significativa, no entanto, EP, CF, LF e CFR, a taxa de seleção de genótipos foi alta, considerando parâmetros de relevância na avaliação experimental (tabela 2).

As diferenças significativas encontradas entre os caracteres de produtividade podem estar associadas a influência ambiental nos genótipos e também as diferenças nos potenciais genéticos dos diferentes tipos de cultivares que afetam diretamente na produtividade (SING et al., 2003; ARIYO, 1993).

Os resultados encontrados corroboram com Sing (1986) e Adeniji (2003) que mencionam a relação dos atributos de produtividade em relação a influência ambiental sobre os genótipos de diferentes espécies de quiabeiros, como também, a diferença na composição genética das diferentes variedades podem determinar a produtividade da cultura.

As estimativas dos parâmetros genéticos obtidos nas análises individuais de cada um dos caracteres (Tabela 4) mostraram grande variação, detectando polimorfismo em todos os parâmetros. As principais diferenças significativas encontradas foram na LF (largura da folha) CF (comprimento da folha) e CFR (comprimento do fruto).

**Tabela 4.** Médias dos caracteres quantitativos de variedades de quiabeiro, Guarapuava-Pr.

Var	NE	EP	LE	SE	AP	CF	LF	CFR
1	7,7	1,7	4,7	5,0	32,5 a	18,0 ab	21,0 abc	18,0 abc
2	8,3	1,4	2,3	6,7	16,2 d	22,0 ab	9,9 abc	21,2 abc
3	9,0	1,3	1,9	5,0	29,0 b	8,0 b	9,5 abc	21,0 abc
4	8,3	2,1	3,3	6,3	24,2 c	14,8 ab	21,5 abc	13,7 bc
5	7,7	1,6	4,0	7,0	23,5 c	23,5 ab	11,8 abc	18,3 abc
6	7,8	1,3	4,3	6,0	24,4 c	17,9 ab	15,2 abc	21,0 abc
7	8,0	1,5	3,7	6,0	24,5 c	22,8 ab	7,7 bc	20,0 abc
8	8,3	1,6	3,0	5,3	31,0 a	26,7 ab	11,0 abc	19,7 abc
9	9,0	1,7	4,0	5,7	27,2 b	21,8 ab	13,2 abc	22,3 abc
10	8,7	5,9	3,7	6,0	18,8 d	15,2 ab	8,4 bc	15,3 bc
11	7,7	1,6	3,3	6,7	25,7 b	21,7 ab	15,7 abc	15,7 bc
12	8,3	1,4	5,0	5,3	26,2 b	24,2 ab	11,7 abc	30,7 a
13	9,3	2,1	3,7	6,0	13,8 d	24,5 ab	9,0 bc	18,5 abc
14	8,0	1,5	2,0	5,7	25,3 b	13,2 ab	6,5 bc	18,0 abc
15	7,7	1,5	4,3	6,3	26,0 b	21,8 ab	23,5 ab	20,3 abc
16	8,3	1,7	4,7	5,0	24,0 c	25,5 ab	8,6 bc	17,7 bc
17	8,0	1,4	2,8	5,3	25,2 b	20,0 ab	12,2 abc	21,0 abc
18	8,0	1,5	4,3	5,3	26,5 b	19,2 ab	16,5 abc	18,0 abc
19	8,3	1,7	3,3	7,0	24,7 c	25,7 ab	6,0 c	13,5 bc
20	8,0	1,3	4,0	6,0	25,2 b	17,5 ab	19,8 abc	17,3 bc
21	7,7	1,6	4,3	6,3	20,7 c	18,8 ab	8,3 bc	21,3 abc
22	8,0	1,7	3,0	5,3	26,2 b	14,7 ab	26,3 a	21,8 abc
23	10,0	1,2	2,0	5,0	24,4 c	26,5 ab	7,2 bc	25,8 ab
24	8,3	1,7	2,8	5,3	28,5 b	19,8 ab	7,5 bc	16,2 bc
25	8,0	1,4	4,0	5,0	16,8 d	19,7 ab	12,0 abc	22,8 abc
26	8,0	1,6	3,7	6,3	21,8 c	26,2 ab	13,8 abc	11,7 c
27	8,0	1,5	2,7	7,3	27,3 b	15,7 ab	10,0 abc	18,7 abc
28	7,0	1,6	3,0	6,7	24,2 c	30,0 a	8,5 bc	20,0 abc

Var	NE	EP	LE	SE	AP	CF	LF	CFR
29	7,7	1,6	3,8	5,3	30,5 a	7,9 b	16,5 abc	21,0 abc
31	9,3	1,3	4,3	6,0	25,7 b	17,3 ab	15,3 abc	15,5 bc
32	9,3	1,4	4,0	6,3	21,0 c	13,7 ab	7,0 bc	20,6 abc
33	7,3	1,6	3,0	6,7	27,7 b	15,0 ab	11,3 abc	20,3 abc
34	9,0	1,8	2,7	6,0	20,3 c	14,8 ab	10,3 abc	15,0 bc
Média	8,27	1,67	3,44	5,92	24,46	19,66	12,36	19,09
CV (%)	11,62	81,91	35,70	18,54	22,8	30,54	42,59	20,59

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste Tukey ( $p < 0,05$ ); NE- número de epicálice; EP- Epicálice (mm); LE- Largura do epicálice; SE- Segmento do estigma; AP- Altura de plantas na primeira antese (cm); CF- Comprimento da folha (cm); LF- Largura da folha (cm); CFR- Comprimento do fruto (cm); ns: diferenças não significativas.

As medidas do número de epicálice, epicálice, largura do epicálice e segmento do estigma indicaram diferenças não significativas entre os materiais. Para as medidas do epicálice as variedades 10 (5,9 mm) e 4 (2,1 mm) e 13 (2,1 mm) apresentaram os melhores resultados, porém não diferiram estatisticamente de outras 21 variedades.

Plantas dos acessos 1, 8 e 29 se destacaram por apresentar maior altura na primeira antese, enquanto os acessos 4, 5, 6, 7, 16, 19, 21, 23, 26, 28, 30, 32 e 34, apresentaram plantas de menor estatura.

O material 28 apresentou maior comprimento de folha (30 cm) diferindo estatisticamente do 29 (7,9 cm) e do 3 (8,0 cm), não diferindo das demais variedades.

Em relação a largura da folha, o 22 teve o melhor resultado em relação aos demais que não diferiram entre si. Quando comparado a largura da folha a variedade 19 e 22 são diferentes entre si dos demais.

Em relação ao comprimento do fruto, 12 demonstrou o melhor resultado 30,7 cm, o valor mais baixo foi de 26 com 11,7 cm e 23 com 25,8 cm. Ao comparar esses três tratamentos dentro dessa variável observa-se que não tiveram diferenças significativas entre si.

A variedade 12 apresentou em geral melhores resultados quando comparado com os demais: NE (8,3), EP (1,4 mm), LE (5,0 cm), CF (24,2 cm), LF (11,7 cm) e CFR (30,7 cm).

Em relação aos caracteres de comprimento e largura do fruto a associação não significativa entre alguns tratamentos, segundo o autor Shukla (1990), mostra que os dois caracteres podem ser selecionados separadamente, são componentes da produção de sementes.

Para Akinyele e Oseikita (2006), a relação do comprimento do fruto indica a possibilidade de selecionar tipo de frutos com maior qualidade de proliferação e com tamanhos mais longos.



**Tabela 5.** Caracteres qualitativos de variedades de quiabeiro, Guarapuava-Pr.

Variedade	FE	CP	BP	TF	CF	PC	CC
1	Li	Am	In	Qui	Vd	Med	Vm
2	Li	Am, Br	In	Qui	Vm	Not	Vm
3	Li	Am	In	Qui, Cil	Vd	Med	Vm
4	Li, Lan	Am	In	Qui	Vd	Not	Vd
5	Li	Am	In	Qui	Vd	Not	Vd
6	Li	Br	In	Cil	Vd	Med	Verd/vd
7	Li	Am	In	Qui	Vd	Not	Verd/vd
8	Li	Am	In	Qui	Vd	Alt	Verd/vm
9	Li, Lan	Am, Br	In	Rol	Vd	Med	Verd/vm
10	Li	Am, Br	In	Qui	Vd	Med	Vd
11	Li, Lan	Am, Br	In, Ext	Cil	Vd	Med	Vd
12	Li, Lan	Am, Br	In, Ext	Qui	Vd	Not	Vm
13	Li, Lan	Am	In, Ext	Cil	Vd	Not	Vd
14	Li	Am, Br	In	Qui	Vd	Alt	Vd
15	Li	Am	In	Qui	Vd	Med	Vd
16	Li, Lan	Am, Br	In	Qui, Rol	Vd	Alt	Vd
17	Li	Am, Br	In	Qui, Rol	Vd	Alt	Vd/vm
18	Li	Am, Br	In, Ext	Qui	Vd	Med	Vd/vm
19	Li	Am, Br	In	Qui	Vd	Not	Vm
20	Li	Am, Br	In	Qui	Vd	Not	Vd/vm
21	Li, Lan	Am, Br	In	Qui	Vd	Alt	Vd/vm
22	Li	Am	In	Cil	Vd	Alt	Vd
23	Li	Am, Br	In	Qui	Vd	Alt	Vd
24	Li	Am, Br	In	Qui	Vm	Alt	Vm
25	Li	Am	In	Cil	Vd	Alt	Vd
26	Li	Am, Br	In	Qui	Vm, Vd/	Med	Vd
27	Li	Am	In, Ext	Qui, Rol	Vm, Vd/	Alt	Vd
28	Li	Am	In, Ext	Qui	Vd	Med	Vd/vm
29	Lan	Am	In	Cil	Vd	Med	Vm
30	Li, Lan	Am, Br	In	Rol	Vm	Med	Vd/Vm
31	Li	Am, Br	In	Qui	Vd	Alt	Vd
32	Li	Am	In	Qui, Cil	Vd, Vm	Alt	Vm
33	Li	Am	In	Cil	Vd, Vm	Alt	Vd, Vm
34	Li	Am	In, Ext	Qui, Cil	Vd, Vm	Alt	Vd/vm, Vm

\*FE- Forma do epicállice; CP- Cor da pétala; BP- Base da pétala; TF- Tipo de fruto; CF- Cor do fruto; PC- Pubescência do caule; CC- cor do caule. Li- Linear; Lan- Lanceolado; Am- Amarelo; Br- Branco; In- Interna; Ext- Externo; Qui- Quinado; Rol- Roliço; Cil- Cilindrico; Vd- Verde; Vm- Vermelho; Vd/- Verde e vermelho; Alt- Altamente piloso; Med- Médio piloso; Not- Notável.

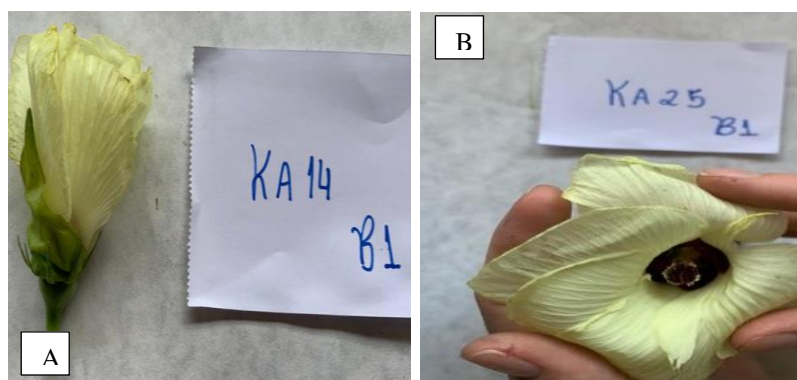
O quiabeiro é uma espécie autógama, que se autopoliniza, mas com frequente alogamia. A taxa de cruzamentos é alta variando de 18,75 % a 42,2 % (PUREWAL e RHANDHAWA,

1947), feita por insetos (MALERBO et al, 2001). Assim, cada variedade avaliada do banco de germoplasma apresentou importância dos resultados, tanto para caracteres qualitativos como quantitativos.

Quanto as características das flores relacionadas a forma do epicálice (FE) das 34 variedades avaliadas, nove se diferenciaram, sendo oito lanceolados e lineares e um lanceolado (Tabela 5). Para a cor das pétalas (CP), 17 foram amarelas e uma branca e 16 brancas e amarelas (Figuras 10 C). A base das pétalas (BP) (Figura 10 A e B) a maioria apresentou coloração interna e sete apresentaram cores tanto internas como externas na base.

Para as características apresentadas em relação aos frutos (Figura 11), a maioria dos frutos eram do tipo quinado, entretanto, quatro variaram entre quinado e roliço, três entre quinado e cilíndrico, sete cilíndricos e dois do tipo roliço. Desses frutos a variação da cor do fruto (CF) alternou entre verde (a maior parte), três vermelhos e cinco verde e vermelho.

As características do caule, em relação a pubescência (PC), 12 apresentaram médio piloso, oito pubescências notável e 14 pubescência altamente pilosa. Para cor do caule (CC) 15 tiveram caule verde, sete vermelhos e outros 12 variaram de verde e vermelho.



**Figura 10.** Avaliações qualitativas em relação a cor amarela (A) ou branca (B) das flores.  
Fonte: O Autor, 2019.



**Figura 11.** Frutos de quiabo em avaliações de caracteres qualitativos: cor, tipo e tamanho de frutos. Fonte: O Autor, 2021.

Santilli (2009) e Nass (2001) afirmaram que em um reservatório genético podem ser considerados recursos para buscar soluções para problemas e alterações ambientais encontradas no mundo, além de fornecerem matéria-prima para o desenvolvimento da agricultura. Esses recursos agregam a base de todas as atividades agrícolas e agrobiodiversidade em todos os níveis, esses elementos interagem na produção agrícola para variabilidade da diversidade de espécies, diversidade genética e ecológica.

Henry e Krishna (1990) investigaram a relação de caracteres que exercem correlação negativa entre si, sendo difíceis para seleção na caracterização de características desejáveis, com associação negativas mais a correlação não significativa, desconsiderados para seleção de melhoramento da variedade da cultura do quiabo.

**Tabela 6.** Caracteres de produtividade de quiabeiro, Guarapuava-Pr.

Genótipo	RF (t ha <sup>-1</sup> )	NFP	MMF (g)	RS (g fruto <sup>-1</sup> )
1	18.7 b	25.3 b	25.2 b	6.5 b
2	20.2 b	26.7 b	26.0 b	6.3 b
3	21.3 a	25.9 b	29.0 a	6.5 b
4	14.3 c	24.2 b	19.8 c	6.7 b
5	19.2 b	27.3 b	23.2 b	5.8 b
6	19.7 b	26.4 b	25.9 b	6.4 b
7	18.7 b	26.8 b	23.6 b	6.1 b
8	21.2 a	23.2 b	30.5 a	6.9 b
9	20.8 b	32.2 a	21.4 b	4.0 c
10	15.3 c	24.1 b	21.3 b	6.7 b
11	17.5 b	20.5 c	28.0 b	9,3 a

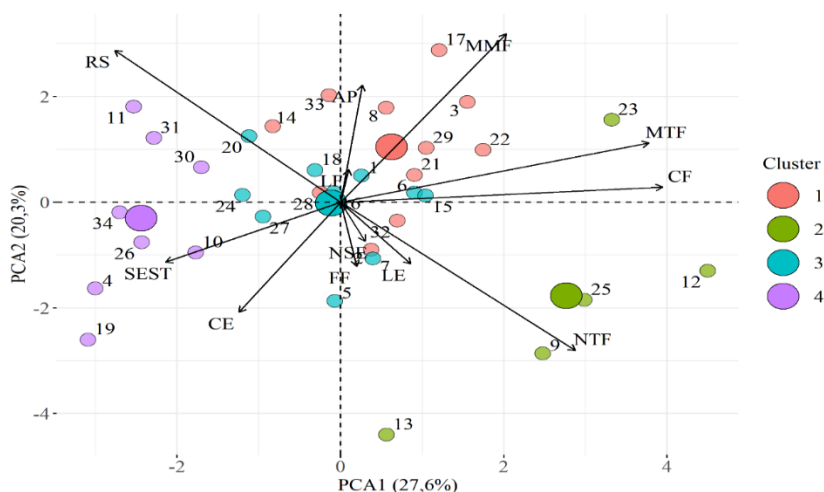
Genótipo	RF (t ha <sup>-1</sup> )	NFP	MMF (g)	RS (g fruto <sup>-1</sup> )
12	23.5 a	30.3 a	25.8 b	5.4 b
13	19.4 b	30.3 a	22.3 b	5.4 b
14	18.3 b	23.7 b	27.2 b	8.2 a
15	21.5 a	26.1 b	27.4 b	6.2 b
16	19.2 b	23.5 b	27.5 b	7.0 b
17	23.9 a	23.1 b	33.8 a	7.4 b
18	18.0 b	23.8 b	25.6 b	6.8 b
19	12.9 c	25.3 b	17.2 c	6.4 b
20	17.3 b	22.6 b	25.6 b	8.7 a
21	22.5 a	24.2 b	31.2 a	6.7b
22	22.9 a	26.1 b	29.3 a	6.2 b
23	24.9 a	25.7 b	32.6 a	6.3 b
24	17.3 b	24.4 b	23.0 b	6.9 b
25	22.6 a	30.2 a	25.0 b	4.3 c
26	15.1 c	23.1 b	21.6 b	7.1 b
27	18.3 b	25.5 b	24.2 b	6.4 b
28	20.1 b	24.2 b	27.9 b	6.7 b
29	20.7 b	25.8 b	27 b	6.3 b
30	16.5 b	22.5 b	24.8 b	8.3 a
31	15.1 c	20.9 c	24.4 b	7.8 a
32	20.3 b	25.6 b	26.7 b	6.3b
33	21.4 a	22.8 b	31.5 a	7.1 b
34	15.3 c	22.0 c	23.3 b	7.3 b
CV (%)	18.1	14.3	13.8	12.2
p-valor	p<0.001	0.2	p<0.001	0.3

<sup>1</sup>Dados transformados para 1/y. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 5% de significância. RF= rendimento de frutos (t ha<sup>-1</sup>); NFP= número de frutos planta<sup>-1</sup>; MMF=massa média de frutos (g) RS=rendimento de sementes por fruto (g fruto<sup>-1</sup>).

Ao analisar os caracteres produtivos (Tabela 6) ficou evidente a variabilidade expressa pelos acessos de quiabo avaliados em campo. O maior rendimento de frutos (RF) foi verificado para as variedades 3, 8, 12, 15, 17, 21, 22, 23, 25 e 33, com produtividade de frutos imaturos que variaram de 21,2 a 24,9 t ha<sup>-1</sup>. Esses valores estão em consonância ao observado na literatura em que a resposta heterótica do aumento da produção de frutos por planta possui relação ao aumento da altura da planta, número de frutos, ramos por planta e peso médio dos frutos. Isto indica que a seleção de plantas pode ser eficiente ao modificar a altura da planta, número de ramos e o diâmetro do fruto. Em quiabo, os valores de herdabilidade são considerados de médio a elevados (SINGH et al., 1974; KULKARNI et al., 1978; MISHRA e CHHONKAR, 1979).

Os coeficientes de variação estimados para os componentes de produção estão dentro de valores aceitáveis. Todos os caracteres apresentaram significância inferior a 5% de probabilidade ( $p < 0.005$ ). O quiabo pode ser considerado em óticas distintas de aproveitamento econômico, em que os frutos imaturos são de grande interesse na alimentação humana, assim como, em outro contexto, as sementes podem ter fundamental interesse econômico, principalmente no que tange a produção de óleos, tanto para aplicação nutracêutica, quanto para uso como biocombustíveis.

O maior número de frutos foi obtido nos acessos 9, 12, 13 e 25, com valores de 30,2 a 32,2 frutos por planta (NFP). A maior massa média de frutos foi encontrada nos acessos 3, 8, 17, 21, 22, 23 e 33, com valores variando de 29 a 33,8 g fruto<sup>-1</sup> (MMF). As variedades com maior rendimento de sementes foram 11, 14, 20, 30 e 31, com RS que variaram de 7,8 a 9,3 g de sementes por fruto (Tabela 6). Esse parâmetro é de fundamental importância para avaliar a viabilidade de variedades para cultivo com fins de uso de sementes para extração de óleo, pois quanto mais uma planta produz sementes maior quantidade de óleo ela poderá produzir. Essa característica indica que a seleção pode auxiliar em ganhos satisfatórios na característica principal, rendimento de sementes por frutos, é considerado caractere de efeito significativo (RESENDE, 2002). A quantificação dessas respostas com a prática de seleção, é um aliado no estudo de associação de características produtivas. Para obter ganhos em rendimento de óleo essas estimativas de efeitos diretos e indiretos, leva a um aumento da produtividade, mantendo a variabilidade genética para teor de óleo.



**Figura 12.** Análise de componentes envolvendo caracteres morfológicos e de produção de 34 acessos de quiabeiro. Fonte: O Autor, 2022.

Ao comparar o teste de agrupamento de médias com a PCA (Figura 12), observa-se ampla coerência entre os resultados. A exemplo disso podemos fazer inferência aos acessos 21, 22 e 23, que no teste de Scott Knott para RF se destacaram por serem os mais produtivos e na PCA foram agrupados no mesmo cluster, juntamente a esta característica. Essa observação pode também ser feita para os acessos 11, 31 e 30, que se destacaram no teste de média por possuir bom rendimento de sementes, e que também foram agrupados no mesmo cluster na PCA com esse caractere.

Algumas correlações significativas eram esperadas, como MMF, RF e NFP, porém chama atenção a correlação positiva significativa entre o CF com as características de produção, como a RF, NFP e MMF. Uma explicação lógica para esse resultado está no tamanho da folha e sua relação com a taxa fotossintética, aumentando a produção de foto assimilados e consequentemente os parâmetros produtivos da planta. Uma situação interessante é o rendimento de sementes por frutos, que se correlacionou de forma negativa e significativa com o CF, RF e NFP e de forma positiva, porém baixa com a MMF do quiabeiro. Quanto menor o tamanho do fruto, menor será a massa de sementes contida neles. Quando se compara o CF com o RS e verifica-se correlação negativa, imagina-se que está envolvido a força dos drenos para com fonte, demonstrando que os foto assimilados produzidos são destinados para formar novos frutos e não aumentar o tamanho dos existentes. Portanto, ficando com tamanho reduzido e baixa massa de sementes

## **5.2. Avaliações moleculares genéticas**

Dentre os 42 primers ISSR utilizados, 25 apresentaram produtos de amplificação de qualidade (Tabela 7). Estes primers amplificaram 178 fragmentos e a porcentagem média de polimorfismo foi de 4,72%. Quando analisada separadamente cada primer, a porcentagem de polimorfismo variou de 25 a 100%. Os valores de Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC) variaram de 0,34 a 0,50.

Os valores de PIC variaram de 0,34 a 0,50, com média de 0,46.

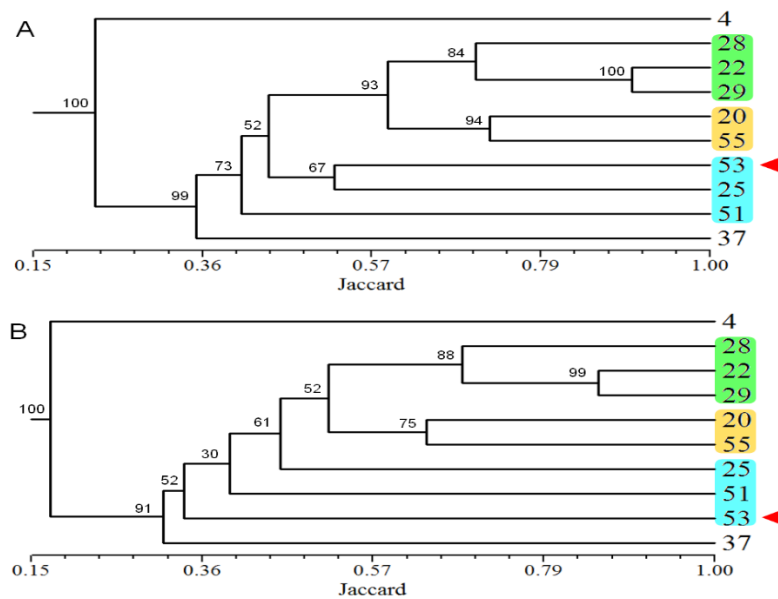
Os valores de Poder de Resolução (RP) variaram de 0,66 a 7,4 com média de 3,17.

**Tabela 7.** Relação dos 25 *primers* ISSR, que apresentaram produtos de amplificação de qualidade, utilizados com os parâmetros: NF - número de fragmentos amplificados, P - porcentagem de polimorfismo (%), PIC - conteúdo de informação polimórfica, RP - poder de resolução, em genótipos de quiabo.

<b>Primer*</b>	<b>NF</b>	<b>P (%)</b>	<b>PIC</b>	<b>RP</b>
UBC 807	5	40,0	0,49	0,66
UBC 808	7	57,1	0,49	2,40
UBC 809	7	42,8	0,42	1,80
UBC 810	8	62,5	0,48	2,42
UBC 811	4	50,0	0,47	1,32
<b>UBC 823</b>	8	80,0	0,49	5,74
UBC 826	7	71,4	0,48	5,74
<b>UBC 827</b>	9	77,7	0,49	5,28
UBC 834	8	37,5	0,42	1,40
UBC 835	6	50,0	0,46	2,20
<b>UBC 836</b>	14	100,0	0,49	7,40
<b>UBC 848</b>	7	100,0	0,50	6,02
<b>UBC 855</b>	7	88,9	0,47	5,40
UBC 856	6	83,3	0,49	1,80
<b>UBC 857</b>	10	100	0,49	6,40
UBC 858	7	42,8	0,50	1,40
<b>UBC 864</b>	11	63,6	0,46	4,00
UBC 866	7	42,8	0,34	1,32
<b>UBC 868</b>	11	54,5	0,48	3,60
UBC 873	8	62,5	0,34	1,40
UBC 878	6	66,6	0,50	2,00
UBC 886	11	45,4	0,50	2,20
UBC 890	6	25,0	0,48	2,00
<b>UBC 891</b>	10	50,0	0,49	4,20
<b>UBC 899</b>	9	88,8	0,46	4,60

\* *primers* em negrito foram considerados os melhores para estudos genéticos em quiabo de acordo com os critérios utilizados.

A similaridade genética média entre os 10 genótipos foi de 0,43 utilizando os 25 *primers* ISSR que apresentaram polimorfismo e de 0,38 quando utilizados os 10 *primers* selecionados que apresentaram maior polimorfismo. Os dois dendrogramas obtidos por agrupamento UPGMA foram semelhantes (Figura 13) ocorrem troca de posição de apenas um genótipo no dendrograma, porém os grupos se mantiveram.



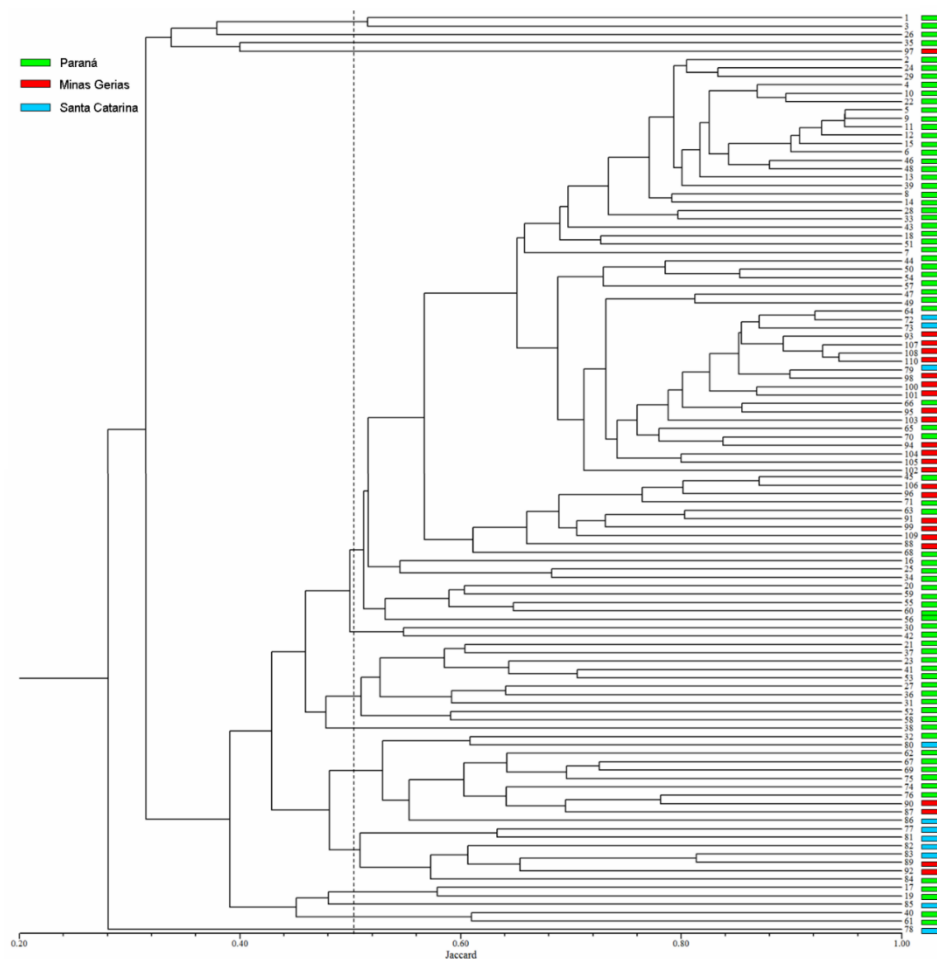
**Figura 13.** Dendrogramas de 10 genótipos de quiabo obtidos do PCR com 25 primers ISSR que apresentaram amplificação (A) e com os 10 primers selecionados com maior polimorfismo (B). Os valores nas bifurcações dos ramos indicam os valores de *bootstrap*. A seta indica o único genótipo que teve o posicionamento alterado no dendrograma. Fonte: O Autor, 2019.

Dentre os 10 genótipos selecionados, o 4 e 37 foram os mais distantes no dendrograma, sendo mais divergentes geneticamente (figura 13).

### 5.2.1. Análise da diversidade genética

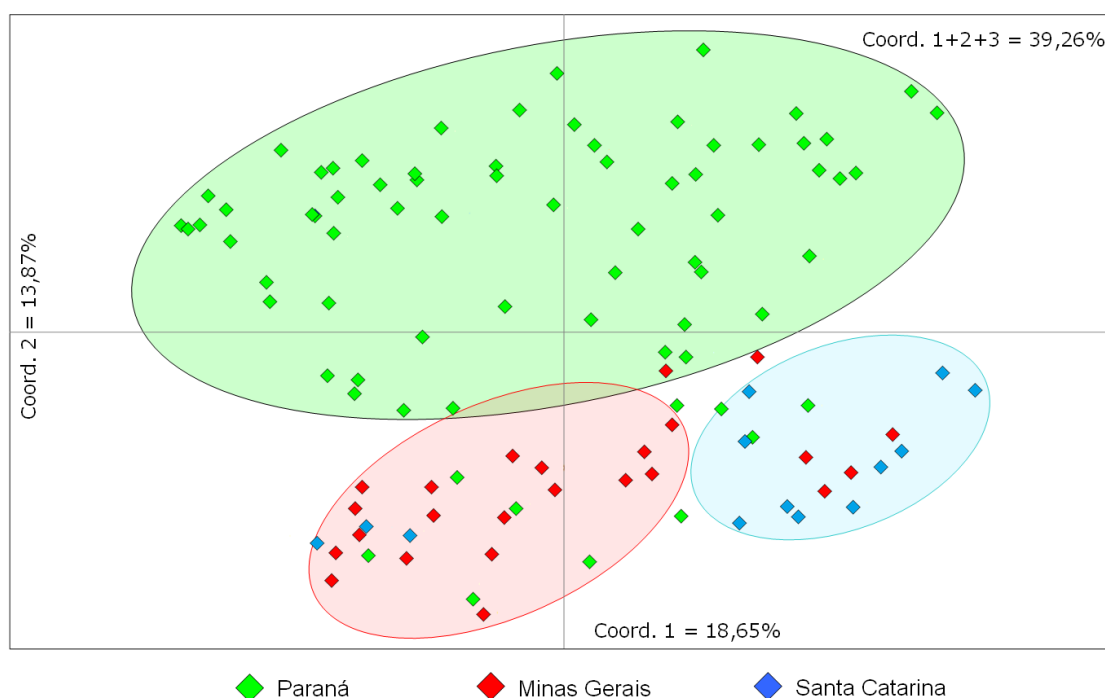
O índice de Shannon das 42 variedades de quiabo utilizando os 10 primers ISSR selecionados foi de 0,58. O dendrograma evidencia que os genótipos de diferentes origens apresentam moderada estruturação (Figura 14). A similaridade média entre todos os genótipos foi de 0,50, para quantificar a densidade genética dos genótipos.





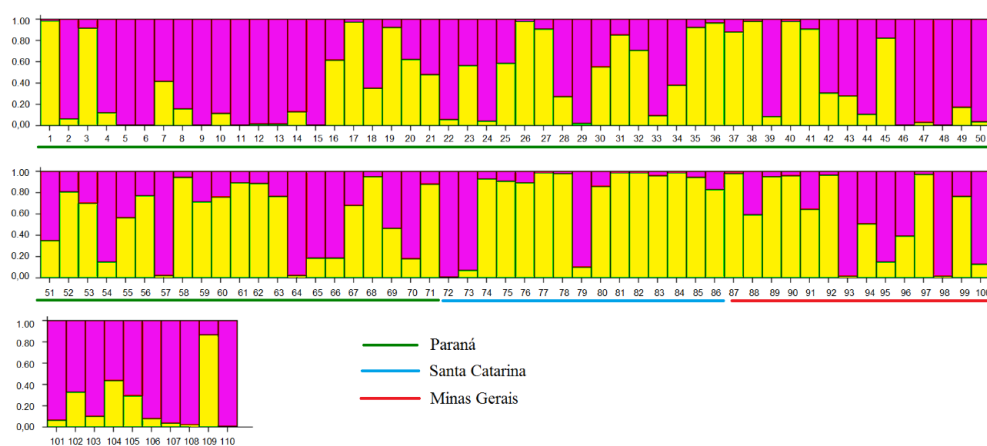
**Figura 14.** Dendrograma com a relação genética dos 110 genótipos de quiabo obtidos com dados de 88 *loci* de 10 *primers* ISSR (inter-simple sequence repeat). A linha pontilhada na vertical endica a similaridade média entre todos os genótipips que foi de 0,50. Fonte: O autor, 2019

Na Análise de Coordenadas Principais (PCoA) as variedades do Paraná, apesar de a maioria dos genótipos apresentarem estruturação, a diversidade genética de parte dos genótipos é semelhante com genótipos de Minas Gerais e Santa Catarina (Figura 13). O mesmo aconteceu entre os genótipos de Minas Gerais e Santa Catarina, corroborando com o agrupamento obtido no dendrograma (figura 14). As coordenadas 1 a 3 explicam 39,26% da diversidade evidenciando que somente uma população (de uma única origem) não é capaz de explicar a diversidade genética da espécie.



**Figura 15.** Análise de Coordenadas Principais (PCoA) dos 34 genótipos de quiabo obtidos com dados de 88 *loci* de 10 *primers* ISSR (inter-simple sequence repeat). Os círculos indicam as áreas com maior representação do genótipos de cada região estudada. Fonte: O Autor, 2019.

A análise de estrutura genética evidenciou que a diversidade genética dos genótipos estudados é melhor explicada quando considerado dois grupos genéticos (Figura 15). Estes grupos estão distribuídos nos genótipos de diferentes origens, porém nos genótipos de Santa Catarina há predominância do grupo genético II (destaque em cor clara na Figura 16).



**Figura 16.** Distribuição de dois grupos genéticos (k), grupo I em cor escura e grupo II em cor clara, em 34 genótipos de quiabo, oriundos dos estados do Paraná, Santa Catarina e Minas Gerais. Fonte: O autor, 2019.

A seleção de primers foi efetiva em quiabo e permitiu diminuir os custos e o tempo das análises de diversidade genética. Na literatura o uso do PIC e RP têm mostrado efetivo na seleção de primers. Em *Jatopha curcas* (TATIKONDA et al., 2009; GRATIVOL et al., 2011) e *Ipomoea batatas* (CAMARGO et al., 2013) os valores de RP apresentaram elevada variação para primers ISSR, permitindo, em combinação com os valores de PIC, selecionar os de maior potencial de obtenção de resultados mais robustos para as espécies. A eficiência na seleção de primers para uma espécie é considerada quando os primers selecionados apresentam resultados semelhantes aos obtidos com uso de todos os primers disponíveis. Em estudo de diversidade genética, geralmente é utilizado um elevado número de primers para obtenção e resultados robustos. Esta abordagem aumenta o custo e também o tempo para obtenção dos resultados. Isshiki et al. (2008) relataram que uma seleção prévia permite diminuir a quantidade de primers sem comprometimento dos resultados obtidos.

Os autores Isshiki et al. (2008) em estudos com *Solanum melongena* para diferenciação de oito cultivares testaram 100 primers ISSR, concluindo que a robustez para diferenciar os genótipos do trabalho seria suficiente com apenas 34 primers. No estudo aqui realizado com quiabo, também a partir dos índices de PIC e RP foram selecionados 10 primers ISSR mais informativos para quiabeiros. Os dados obtidos com todos os primers e com os 10 primers selecionados (Figura 13A e 13B) foram muito similares evidenciando a robustez dos primers selecionados.

Os genótipos de quiabo avaliados apresentam moderada diversidade e baixa estruturação. Estas conclusões são baseadas na diversidade genética de Shannon (0,58), pelos agrupamentos observados no dendrograma (figura 14), dendrograma (figura 16), pela PCoA e análise Bayesiana. A diversidade genética de genótipos de quiabo tem sido observada como moderada a alta ao redor do mundo (HUANG et al. 2017; MASSUKATO et al. 2018; YUAN et al. 2014; YOUNIS et al. 2015). A baixa estruturação também foi observada em outros trabalhos com genótipos de quiabo (HUANG et al. 2017; MASSUKATO et al. 2018). Esta falta de estruturação evidencia o compartilhamento de características genéticas entre genótipos de diferentes regiões geográficas. O quiabo foi introduzido no Brasil pelos imigrantes africanos, a espécie tem sido mantida por agricultores familiares para consumo próprio e comercialização. A produção de sementes em grande quantidade e a facilidade na germinação e cultivo da espécie potencializa a troca de sementes entre agricultores o que pode explicar a baixa estruturação observada mesmo entre genótipos de diferentes estados.

### 5.3. Análises físico-químicas

#### 5.3.1. Teor de acidez e umidade das sementes

Segundo especificações a umidade adequada para armazenamento de sementes oleaginosas é de 8-10% m/v para estoques de períodos mais longos (TORRES, 2022). A média encontrada na umidade das sementes de quiabo foi de 9%.

Quanto menor o teor de umidade das sementes e temperatura, são as condições de armazenamento ideais. A baixa umidade nas sementes é necessária para um bom rendimento da extração do óleo facilitando todo o processo (VALENTINI et al., 1998 e AQUINO et al., 2009).

**Tabela 8.** Análise do teor de óleo, índice de acidez e teor de umidade das variedades de quiabo selecionadas.

Variedade	Teor de Óleo (%)	Índice de acidez (mg KOH g <sup>-1</sup> )	Teor de umidade %
4- KA 04	13	7,0	9,0
8- KA 09	19	4,0	8,0
12- KA 15	19	2,0	8,0
17- KA 20	16	7,0	9,0
19- KA 22	14	3,0	9,0
34- KA 28	17	3,0	8,0
28- KA 35	15	4,0	9,0
29- KA 37	15	3,0	8,0
32- KA 41	15	4,0	9,0
33- KA 42	19	4,0	9,0

Fonte: O autor, 2022.

O teor do óleo encontrado nas sementes de quiabo apresentou em média 16,2%, variando de 13% a 19%, sendo que: 15, 09, 42 apresentaram os melhores rendimentos com 19% (Tabela 8). Esse valor encontrado é semelhante ao que descreve Anwar et al. (2011) e Andras et al (2005) que relataram uma variação de 12% a 20% dependendo da variedade e região de cultivo. Para Moretto e Fett (1998) esses valores são satisfatórios quando comparado com oleaginosas como soja e algodão, que estão entre as principais fontes de produção de biodiesel no Brasil, com rendimento de 18-20%.

### 5.3.2. Neutralização

Acredita-se que devido ao processo de extração que o experimento foi submetido, as análises apresentaram uma acidez elevada. Apenas 04 e 20 apresentaram acidez baixa e os demais apresentaram 6 mg KOH g<sup>-1</sup>, sendo necessário passar pelo processo de neutralização.

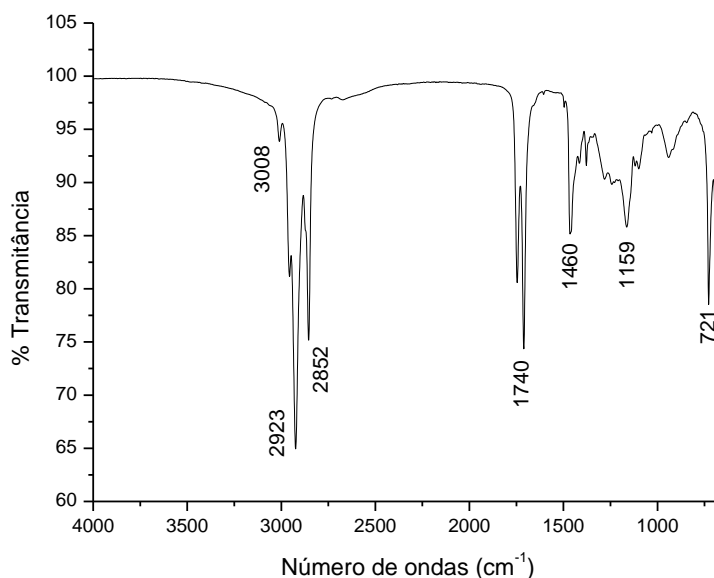
Após passarem pela neutralização as amostras do óleo atingiram o valor de 0,8 mg KOH g<sup>-1</sup> (tabela 6).

A acidez adequada pode reduzir o tempo de reação de transesterificação e garantir um rendimento adequado. Óleos com acidez maior que 2 mg KOH g<sup>-1</sup> comprometem o processo de transesterificação quando submetidos à catalise básica, causando ocorrência de reações paralelas como saponificação, dificultando a separação de éster e glicerol, diminuindo a conversão dos ácidos graxos em ésteres (KWIECIEN et al., 2009).

### 5.3.3. Infravermelho do óleo de semente de quiabo

Para obter informações sobre a diferença estrutural entre as amostras do óleo das sementes de quiabo, realizou-se análise dos espectros de infravermelho, obtidos nas regiões de 650 a 4000 cm<sup>-1</sup>.

O espectro descritivo da Figura 17, mostra inicialmente como o espectro de infravermelho é apresentado para o óleo das sementes de quiabo.



**Figura 17.** Espectro de infravermelho para o óleo da sementes de quiabo da variedade 12 (KA 15). Fonte: O Autor, 2022.

A espectrometria é caracterizada pela presença de várias bandas com faixa de comprimento de onda explorado. Estas bandas são características quando há presença dos ácidos insaturados (C18:1 e C18:2).

Os dados apresentados na Figura 17 permitiram a caracterização do óleo de quiabo com características estruturais compatíveis com substâncias orgânicas da classe dos ésteres, tais como: bandas intensas na região de  $2.923\text{ cm}^{-1}$  e  $2.852\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação axial assimétrica e simétrica da ligação CH - ( $\text{sp}^3$ ), banda em  $1.740\text{ cm}^{-1}$  atribuível à deformação axial da ligação C=O, característica da presença de carbonila de éster, banda em  $1.460\text{ cm}^{-1}$ , indicativa da deformação angular simétrica da ligação CH de grupo metileno,  $\text{CH}_2$ , próprio da cadeia hidrocarbônica dos ésteres de ácidos graxos (CALIXTO, 2011; PAVIA et.al., 2010). Vale ressaltar que dados encontrados na literatura mostram que óleo com proporção mais alta dos grupos acila linoléico e linolênico, têm uma frequência maior nas bandas -CH com relação aos de grupo acila oléico (PAVIA et al., 2010).

Também é possível observar uma banda média em  $1.159\text{ cm}^{-1}$  referente a absorção média axial da ligação C-O de ésteres e uma banda discreta em  $721\text{ cm}^{-1}$  inerente à deformação angular simétrica no plano, confirmando a presença do grupo metileno,  $\text{CH}_2$  (CALIXTO, 2011). Outra banda que surge como um ombro em  $3.008\text{ cm}^{-1}$  é referenciada na literatura como indicativo de processo oxidativo (CARVALHO, 2011; PAVIA et al., 2010). Em óleos como o da soja, milho e girassol, por exemplo, a máxima absorbância se dá em  $3009\text{ cm}^{-1}$ , já em óleo como o azeite de oliva ocorre em  $3006\text{ cm}^{-1}$ . Esses dados mostram que para o óleo das sementes de quiabo, o comportamento é semelhante aos óleos de milho, girassol e soja, como a absorbância é  $3008\text{ cm}^{-1}$  para as amostras avaliadas (CARVALHO, 2011).

A amostra de 12 apresentou alta absorção nas bandas que caracterizam os grupos ésteres o que pode indicar que há uma maior quantidade de ésteres presente nesta amostra. Como apresentado na Tabela 9:

**Tabela 9.** Comparativo para bandas características de ésteres nas amostras de óleo de sementes de quiabo.

Número de onda (cm-1)	Transmitância (%T)	
	Variedade 12	Demais amostras
1743	81,5	~64,0
1159	87,0	~72,0

Fonte: O autor, 2022.

Os resultados apresentados conferem ao óleo das sementes de quiabo, boas características para produção de biodiesel, sendo o 12 um material de destaque em relação aos demais avaliados.

## **6. CONCLUSÃO**

A variedade 12 (KA 15) destacou-se com o melhor desempenho geral nas variáveis analisadas, na caracterização morfológica qualitativa e quantitativa. As variedades 21, 22 e 23 (KA 24, KA 25 e KA 27) se destacaram por possuir um maior rendimento de fruto, e as variedades 11, 31 e 30 (KA 14, 40 e KA 39) apresentaram um melhor rendimento de sementes.

As técnicas utilizadas na avaliação de diversidade genética foram eficientes para estabelecer padrões de variedades de quiabo. Essas informações são úteis para o esclarecimento da diversidade dentro da coleção de genótipos-sobre a sua estruturação, auxiliando na pesquisa de novas cultivares, como base genética para programas de melhoramento da cultura. A diversidade genética entre os estados de Minas Gerais e Santa Catarina foram semelhantes, evidenciando a existência de somente uma única população. Os genótipos apresentaram moderada diversidade genética e baixa estruturação. Estas observações indicam haver potencial genético para exploração em programas de melhoramento, objetivando o desenvolvimento de materiais superiores para produção de óleo para a indústria de biocombustíveis.

A umidade média encontrada nas sementes de quiabo foi de 9%, considerada dentro das especificações que necessárias de 8-10%. O teor de óleo encontrado nas sementes apresentou média de 16,2%, com variação de 13% a 19%, sendo a variedade 12, 8, e 33 com o melhor rendimento de 19%. Em relação ao resultado de infravermelho a amostra 12 apresentou alta absorção nas bandas que caracterizam os grupos ésteres, indicando maior quantidade de ésteres presente na amostra.

Os resultados apresentados conferem ao óleo das sementes de quiabo, boas características para produção de biodiesel, com destaque para o material 12 (KA 15) em relação aos demais.

## **7. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTURO**

- A partir dos estudos de variabilidade genética, fazer um de melhoramento genético com os melhores acessos visando a produção de melhor rendimento de óleo.

- Produzir, quantificar e qualificar o biocombustível do óleo das sementes de quiabo utilizando os acessos disponíveis no banco de germoplasma da UNICENTRO.

- Explorar as características do material 12 que apresentou avaliações superiores aos demais para produção de óleo.



## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIOVE. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ÓLEOS VEGETAIS. **Dados de produção e entrega de biodiesel no Brasil.** Disponível em: <[http://www.abiove.com.br/balanco\\_br.html](http://www.abiove.com.br/balanco_br.html)>. Acessado em: 07 de junho de 2022.

ADELAKUN, O.E.; OYELADE, O.I.; ADE-OMOWAYE, B.I.O.; ADEYEMI, I.A.; VAN DE VENTER, M. Chemical composition and the antioxidative properties of Nigerian Okra Seed (*Abelmoschus esculentus* Moench) Flour. **Food and Chemical Toxicology**, v.47, p.1123-1126, 2009.

ALBUQUERQUE, G. A. **Obtenção e Caracterização Físico-Química do Biodiesel de Canola.** 2006. 73 f. (Dissertação de Mestrado: Programa de Pós-Graduação em Química), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB, p.73, 2006.

ALMEIDA, J. K. P.; NUNES, G. P.; TEIXEIRA, C. C. M.; RODRIGUES, D. P. Caracterizações Físico-Químicas De Óleos Vegetais Utilizados Para Produção de Biodiesel Com Metodologias Alternativas Simples. XXXI **Encontro Nacional De Engenharia De Produção.** Belo Horizonte-MG, 2011.

ALZATE-MARIN, A.L.; CERVIGNI, G.D.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 333- 342, 2005

ANDERSON, W.H.; CAROLUS, R.L.; WATSON, D.P. The germination of okra seeds as influenced by treatment with acetone and alcohol. Proceedings. **American Society of the Horticultural Science.** v.62, p. 427-32, 1953.

ANP. AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS **Efeito de ambientes e densidades de semeadura em soja, visando à produção de biodiesel.** Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/?dw=8740>> Acessado em: 07 de junho de 2022.

ANTONIASSI, R. Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v.19, p. 353-380, 2001.

ANWAR F; RASHID U; ASHRAF M; NADEEM M. Okra (*Hibiscus esculentus*) Seed Oil for Biodiesel Production. **Applied Energy**. v. 87, p. 779-785, 2010.

ANWAR, F.; RASHID, U.; MAHMOOD, Z.; IQBAL, T.; SHERAZI, T. H. Inter- varietal

variation in the composition of okra (*hibiscus esculentus* l.) **Seed oil Pak J Bot.** v. 43, p. 271-280, 2011.

AQUINO LP; FERRUA FQ; BORGES SV; ANTONIASSI R; CORREA JLG; CIRILLO MA. Influência da Secagem do Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) na Qualidade do Óleo Extraído. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 29, p. 354-357, 2009.

ARAPITSAS P. Identification and Quantification of Polyphenolic Compounds from Okra Seeds and Skins. **Food Chemistry.** v. 110, p. 1041-1045, 2008.

ATABANI, A. E.; SILITONGA, A. S.; ONG, H. C.; MAHLIA, T. M. I.; MASJUKI, H. H.; BARBIERI, R.L.; HEIDEN, G.; NEITZKE, R.S.; GARRASTAZÚ, M.C.; SCHWENGBER, J.E. **Banco ativo de germoplasma de cucurbitáceas de Embrapa Clima Temperado:** período de 2002 a 2006. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p.30, 2006.

BHATTACHARYA; Rabi, N.; RAO; RANGA, R. Normal approximation and asymptotic expansions. **Society for Industrial and Applied Mathematics**, 2010.

BORÉM, A.; FRITSHE NETO, R. **Biotecnologia aplicada ao melhoramento de plantas.** Viçosa: Suprema, 2013. 336 p.

BRAZ, A. J. L. **Produção e Caracterização de Óleo Vegetal e Biodiesel de Girassol e de Pinhão-Manso.** 2011. 98 f. Dissertação de Mestrado. (Programa Francisco Eduardo Mourão Saboya de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica). Universidade Federal Fluminense.

BROCK, J.; NOGUEIRA, M. R.; ZAKRZEWSKI, C.; CORAZZA, F. C.; CORAZZA, M. L.; OLIVEIRA, J. V. Determinação Experimental da Viscosidade e Condutividade Térmica de Óleos Vegetais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, São Paulo, v. 28, p. 564-570 2008.

BUSO, G.S.C.; CIAMPI, A.Y.; MORETZSOHN, M.D.C.; AMARAL, Z.D.S.; BRONDANI, R.V. Marcadores microssatélites em espécies vegetais. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 7, p. 46-50, 2003

CAIXETA, E.T.; OLIVEIRA, A.C.B.; BRITO, G.G.; SAKIYAMA, N.S. Tipos de marcadores moleculares. In: BORÉM, A. C., E. T. (Ed.). **Marcadores moleculares.** Viçosa: UFV, p.9-78, 2006.

CALIXTO, C. D. **Óleo de quiabo como fonte alternativa para produção de biodiesel e avaliação de antioxidantes naturais em biodiesel etílico de soja.** 2011, 121 f. (Dissertação

Mestrado em Química) - Centro de Ciências Exatas e da Natureza – Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa – PB, 2011.

CAMARGO, L.K.; MOGOR, A.F.; RESENDE, J.T.; DA-SILVA, P.R. Establishment and molecular characterization of a sweet potato germplasm bank of the highlands of Parana State, Brazil. **Genet Mol Res**, v. 12, n. 4, p. 5574-88, 2013.

CAMCIUC M.; DEPLAGNE M.; VILAREM G, GASET A. Okra – *Abelmoschus esculentus* L. (Moench) a Crop with Economic Potential for Set Aside Acreage in France. **Industrial Crops and Products**, v.7, p. 257-264, 1998

CARVALHO, M. L. B. de. **Avaliação da estabilidade termo-oxidativa do óleo das sementes de quiabo** (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). 2011. 94 f. (Dissertação, Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

CARVALHO, N.M. E NAKAGAWA, J. **Sementes**. Ciência, tecnologia e produção. 4. ed. Jaboticabal: Funep, p.588, 2000.

CEAGESP. Centro de Qualidade em Horticultura. **Classificação do quiabo: *Abelmoschus esculentus* Moench**. [São Paulo], 2001. Não paginado. Folheto.

CHUM, H. L.; NIGRO, F; MCORMICKR; BECKHAM G.; SEABRA J.; SADDLER J. Tecnologias de conversão para biocombustíveis e seu uso. In: Joly CA, Victoria RL, Verdade LM, Souza GM, editores. **Bioenergia Sustentar Lacunas**. Paris: Sci Comm Probl Environ, p. 374-467, 2015.

COSTA, M.C.B; OLIVEIRA, G.D.; HAAG, H.P. Efeito da omissão dos macronutrientes e do boro, no desenvolvimento e na composição química de hortaliças. In: HAAG, H. P.; MINAMI, K. **Nutrição mineral em hortaliças**. Campinas: Fundação Cargill, cap. 6, p.257-276, 1981.

CRUZ, C.D.; FERREIRA, F.M.; PESSONI, L.A. **Biometria aplicada ao estudo de diversidade genética**, Visconde do Rio Branco-MG, p.620, 2011.

DAHIYA, A.K., VASUDEVAN, P. Farm biomass utilization alternatives. **Biol Wastes** v. 21, p. 85–91, 1987.

DALE, B.E.; ONG, R.G.; Energia, riqueza e desenvolvimento humano: Por que e como a pesquisa de pré tratamento de biomassa deve melhorar. **Biotechnol Prog**, v.28, p.893–8, 2012.

DANTAS, H. J. **Estudo termo analítico, cinético e reológico de biodiesel derivado do óleo de algodão**. 2006. 122 f. (Dissertação de Mestrado, Universidade da Paraíba, João Pessoa).

- DOYLE, J.J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v.19, p.11-15, 1987.
- ESTEBAN, B.; RIBA, J. R.; BAQUERO, G.; RIUS, A.; PUIG. Temperature dependence of Density and Viscosity of Vegetable Oils. **Biomass and Bioenergy**, nº 42, 2012.
- EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, v. 14, p. 2611-2620, 2005.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: Editora UFV, p. 402, 2000.
- HOLSERA R.A.; BOST G. **Hybrid Hibiscus Seed Oil Compositions**. JAOCS, v.81, p. 795-797, 2004.
- INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ - IAPAR. **Guia de campo para identificação de solos no Estado do Paraná – solos da região do 3º Planalto**. Londrina: Fundação do Instituto Agrônômico do Paraná, 1986.
- IPGRI. **Neglected and Underutilized Plant Species: Strategic Action Plan of the International Plant Genetic Resources Institute**. International Plant Genetic Resources Institute. Rome, Italy, p. 27, 2002.
- ISSHIKI, S.; IWATA, N.; KHAN, M.M.R. ISSR variations in eggplant (*Solanum melongena* L.) and related Solanum species. **Scientia Horticulturae**, v. 117, n. 3, p. 186- 190, 2008.
- JARRET RL, WANG ML, LEVY IJ. Seed Oil and Fatty Acid Content in Okra (*Abelmoschus esculentus*) and Related Species. **J. Agric. Food Chem.** v. 59, p. 4019- 4024, 2011.
- KHAN, A.S.M.M.R.; RABBANI, M.G.; ISLAM, M.S.; RASHID, M.H.; ALAM, A.K.M.M. Genetic diversity in pointed gourd (*Trichosanthes dioica* Roxb) revealed by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. **Thai Journal of Agricultural Science**, v.42, p. 61-69, 2009.
- KOLE, C.; JOSHI, C.; SHONNARD, D.R. **Manual de plantas de cultivo de bioenergia**. 2012
- KUMAR, S.; CHAGNÉ, D.; BINK, M.C.A.M.; VOLZ, R.K.; WHITWORTH, C.; CARLISLE, C. Genomic Selection for Fruit Quality Traits in Apple (*Malus×domestica* Borkh.) (Genomic Selection in Apple). **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, p. e36674, 2010.
- KWIECIEN, J.; HÁJEK, M.; SKOPAL, F. The effect of the acidity of rapeseed oil on its

transesterification. **Bioresource Technology**, v.100, p.5555–5559, 2009.

MILACH, S. **Marcadores de DNA em plantas**. Porto Alegre: UFRGS, p.141, 1998.

MOOSAVI, S. A.; AGHAALIKHANI, M.; GHOBADIAN, B.; FAYYAZI, E. Okra: A potential future bioenergy crop in Iran. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 93, p. 517-524, 2018.

MORALES, E.A.V.; VALOIS, A.C.C.; NASS, L.L. **Recursos genéticos vegetales**. Embrapa-SPI/Embrapa-Cenargem, Brasília, p.78, 1997.

MORALES, M. P; SERNA, C. J.; BODKER, F.; MORUP, S. Spin canting due to structural disorder in maghemite. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 9, n. 25, p. 5461, 1997.

MORETTO E; FETT R. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. Livraria Varela, 1998.

MOTA, W. F. D; FINGER, F. L.; SILVA, D. J. H. D; CORRÊA P. C.; FIRME, L. P.; NEVES, L. L. D. M. Caracterização físico-química de frutos de quatro cultivares de quiabo. **Horticultura brasileira**, v. 23, p. 722-725, 2005.

MOTA, W. F.; FINGER, F. L.; CASALI, V. W. D. **Olericultura: Melhoramento Genético do Quiabeiro**. Viçosa: UFV, 2000.

MULLER JJV. Produção de Sementes de Quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). In: MULLER JJV, CASALI VWD. **Seminários de Olericultura**. v1. 2ed. Viçosa: UFV, 1982.

NASS, L.L. Utilização de recursos genéticos vegetais no melhoramento. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. (Ed). **Recursos genéticos e melhoramento – plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, p. 293-325, 2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Lost Crops of Africa: Vegetables**. The National Academies Press, v.2, 2006.

OSAWA, C. C.; GONÇALVES, L. A. G.; RAGAZZI, S. Titulação Potenciométrica Aplicada na Determinação de Ácidos Graxos Livres de Óleos e Gorduras Comestíveis. **Química Nova**, v.29, 2006.

OTT, J. Strategies for characterizing highly polymorphic markers in human gene mapping. **American Journal of Human Genetics**, v. 51, n. 2, p. 283-290, 1992.

PASSOS, F. A.; MELO, A. M. T. de; TAVARES, M.; YUKI, V. A. Avaliação de cor e formato do fruto em quiabo. **Horticultura Brasileira, Brasília**, v.18 p.647- 648, 2000.

- PAVIA DL; LAMPMAN GM; KRIZ G.S.; VYVYAN J.R. **Introdução à Espectroscopia** (tradução: Pedro Barros), Cengage Learning, 2010.
- PEAKALL, R.; SMOUSE, P.E. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. **Bioinformatics**, v. 28, n. 19, p. 2537-2539, 2012.
- PEDROSA J.F.; MIZUBUTI A; CASALI V.W.D.; CAMPOS, J. P. Caracterização Morfológica de Introduções de Quiabeiro (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). **Horticultura Brasileira**. v.1, p.14-23, 1983.
- PEREIRA, A. A.; COUTO, F. A.; MAESTRI, M. Influência do fotoperíodo na floração do quiabo (*Hibiscus esculentus*). **Revista Ceres, Viçosa**, v. 18, p. 131-138, 1991.
- PEREIRA, A.L. Efeito da idade do fruto e sua localização na planta sobre a qualidade das sementes de quiabeiro (*Abelmoschus esculentus*). Viçosa, UFV, 51p., 1975.
- PERKINS, D.Y.; MILLER, J.C.; DALLIN, S.L. Influence of pod maturity on the vegetative and reproductive behaviour of okra. **Proceedings American Society of the Horticultural Science**, v.60, p.311-4, 1952.
- PREVOST, A.; WILKINSON, M. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 98, n. 1, p. 107-112, 1999.
- PRITCHARD, J.K.; WEN, X.; FALUSH, D. **Documentation for structure software**. Version 2.3. University of Chicago, Chicago, USA, 2010.
- RAMALHO, H. F; SUAREZ, P. A. Z. A Química dos Óleos e Gorduras e Seu Processo de Extração e Refino. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n.1, 2013.
- RAMOS, L.P.; CÉSAR-OLIVEIRA, M. A. F.; MUNIZ-WYPYCH, A. S.; NAKAGAKI, S.; ROHLF, F.J. **NTSYS pc: numerical Taxonomy System**. Version 2.2: Exeter Publishing, New York, 2008.
- ROLDAN-RUIZ, I.; DENDAUW, J.; VANBOCKSTAELE, E.; DEPICKER, A.; DE LOOSE, M. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.) **Molecular Breeding**, v. 6, p. 125-134, 2000.
- SANTILLI, J. **Agrobiodiversidade e direitos dos agricultores**. Editora Peirópolis LTDA, 2009.
- SETUBAL, J.W. **Sementes duras em quiabeiro (*Abelmoschus esculentus*): efeito de métodos**

de colheita e da localização dos frutos na planta, (Dissertação mestrado, Botucatu: FCA/UNESP), p.55, 1987.

SHUI, G., PENG, L.L. An improved method for the analysis of major antioxidants of *Hibiscus esculentus* Linn. **Journal of Chromatography**, v.1048, p. 17– 24, 2004.

SILVA FILHO, D.F. Domesticação e melhoramento de hortaliças amazônicas. In: BORÉM, A.; LOPES, M.T.G.; CLEMENT, C.R. (Eds.). **Domesticação e melhoramento: espécies amazônicas**. Viçosa: UFV, p. 461-486, 2009

SILVA, D.J.H.; MOURA, M.C.C.L.; CASALI, V.W.D. Recursos genéticos do banco de germoplasma de hortaliças da UFV: Histórico e expedições de coleta. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 108-114, 2001.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos Para Avaliação do Grau de Oxidação Lipídica e da Capacidade Antioxidante. **Química Nova**, 1999.

SILVA, W. A.; BARTELS, R. E. Development of reduced-order models for aeroelastic analysis and flutter prediction using the CFL3Dv6. 0 code. **Journal of Fluids and Structures**, v. 19, n. 6, p. 729-745, 2004.

SINGH, N. K.; SINGH, Y.; SHARMA, A. **Optimization of biodiesel synthesis from Jojoba oil via supercritical methanol: A response surface methodology approach coupled with genetic algorithm**. Biomass and Bioenergy, v. 156, p. 106332, 2022.

SOLOMONS, T. W. G; FRYHLE, C. B. **Química orgânica**; volume 2. 7ª edição Rio De Janeiro, 2002.

SOUZA, G.M.; BALLESTER, M.V.R.; BRITO, C.C.H.; CHUM, H.; DALE, B. D.V.H. O papel da bioenergia em um mundo em mudança climática. **Ambiente Desenvolvimento**, 2017.

TATIKONDA, L.; WANI, S.P.; KANNAN, S.; BEERELLI, N.; SREEDEVI, T.K.; **Sustainable Energy Technologies and Assessments**, v. 42, p. 100833, 2020.

VALENTINI SRT; CASTRO MFPM; ALMEIDA FH. Determinação do Teor de Umidade de Milho Utilizando Aparelho de Microondas. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 18, p.237-240, 1998.

WATT, G. **The Commercial Products of India**, p. 381, 1908.

YEH, F.C.; YANG, R.C.; BOYLE, T. **POPOGENE**: Microsoft Windows-based freeware for population genetic analysis. Version 1.31. University of Alberta, Canada and Centre for International Forestry Research, Canada, 1999.

ZANIN, A. C. W; CASTELLANI, P. D., NICOLOSI, W. M., HASEGAWA, M. **Produção de sementes de hortaliças**. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Fundação de Estudos e Pesquisas em Agronomia, Veterinária e Zootecnia, Jaboticabal, p.173-176, 1990.

ZENI, D. B. **Efeitos da temperatura na secagem e da umidade relativa no armazenamento sobre a qualidade de grãos e óleo de canola para biocombustível**. (Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas. Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial). Pelotas- RS, 2010.

ZIETKIEWICZ, E.; RAFALSKI, A; LABUDA, D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomics**, v. 20, n. 2, p. 176-183, 1994.