

PLANO DE TRABALHO DE PÓS-DOCTORADO

I - DADOS GERAIS:

NOME DO PÓS-DOCTORANDO: Antonio Flávio Arruda Ferreira

LINHA DE PESQUISA: Ciências Agrárias

TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA: CLASSIFICAÇÃO DO COEFICIENTE DE VARIAÇÃO E ESTIMAÇÃO DO TAMANHO ÓTIMO DE PARCELAS NA PROPAGAÇÃO E CONSERVAÇÃO DE FRUTÍFERAS TROPICAIS NÃO-TRADICIONAIS

NOME DO(A) SUPERVISOR(A): Glaucia Amorim Faria

NÍVEL: Pós-Doutorado em Agronomia

PERÍODO: 13/09/2017 à 13/09/2021

II - ATIVIDADES A SEREM DESENVOLVIDAS

- 1) Desenvolvimento do Projeto de Pesquisa;
- 2) Participar das atividades didáticas e de pesquisa da Linha de Pesquisa;
- 3) Orientar alunos de graduação em trabalhos de Iniciação Científica (com ou sem bolsa);
- 4) Orientar alunos de graduação em Trabalho de Conclusão de Curso (TCC);
- 5) Co-orientar alunos de pós-graduação a nível de mestrado e doutorado;
- 6) Relatório parcial;
- 7) Relatório final;
- 8) Participação em eventos – Congresso de Iniciação Científica (CIC – avaliador); XXVI Congresso Brasileiro de Fruticultura; Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria – RBRAS e Simpósio de Estatística Aplicada a Experimentação Agrônômica.
- 9) Publicação dos dados pertinentes aos projetos em revistas de alto impacto.

III - CRONOGRAMA

ATIVIDADES DA PESQUISA	2018	2019	2020	2021
Projeto de pesquisa	x	x	x	x
Atividades didáticas	x	x	x	x
Orientação (IC/TCC)	x	x	x	x
Co-orientação de Pós-graduação	x	x	x	x
Relatório parcial		x	x	
Relatório final				x
Participação de eventos	x	x	x	x
Publicação dos dados		x	x	x

Ilha Solteira, 04 de dezembro de 2017

Antonio Flávio Arruda Ferreira

Dr. Antonio Flávio Arruda Ferreira
Pós-Doutorando

Glaucia Amorim Faria

Dra. Glaucia Amorim Faria
Supervisora

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ILHA SOLTEIRA
ÁREA DE PESQUISA EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**CLASSIFICAÇÃO DO COEFICIENTE DE VARIAÇÃO E ESTIMAÇÃO DO TAMANHO ÓTIMO
DE PARCELAS NA PROPAGAÇÃO E CONSERVAÇÃO DE FRUTÍFERAS TROPICAIS NÃO-
TRADICIONAIS**

Eng. Agr. Dr. Antonio Flávio Arruda Ferreira

Candidato

Eng. Agr. Dra. Gláucia Amorim Faria

Supervisor Responsável

ILHA SOLTEIRA/SP

AGOSTO/2017

CLASSIFICAÇÃO DO COEFICIENTE DE VARIAÇÃO E ESTIMAÇÃO DO TAMANHO ÓTIMO DE PARCELAS NA PROPAGAÇÃO E CONSERVAÇÃO DE FRUTÍFERAS TROPICAIS NÃO-TRADICIONAIS

RESUMO

Com o aumento do desmatamento dos grandes biomas nacionais para dar espaço à agropecuária extensiva, diversas frutíferas tropicais não-tradicionais com potencial agroindustrial, econômico, nutracêutico e ainda pouco exploradas, podem ser extintas. Estudos que visam ao estabelecimento, desenvolvimento e conservação *in vitro* por cultura de tecidos dessas espécies, devem ser realizados para utilização em estudos de melhoramento e na manutenção dos bancos ativos de germoplasma. Para a obtenção de informações para a conservação *in vitro*, torna-se imprescindível a instalação de experimentos com a maior precisão possível. Desta forma, o coeficiente de variação por ser a medida mais utilizada na avaliação da precisão dos experimentos, torna-se uma ferramenta importante na tomada de decisão do pesquisador, sendo fundamental a determinação de uma classificação desse coeficiente para a realidade das pesquisas de propagação e conservação *in vitro* de frutíferas tropicais não-tradicionais. Nessas espécies é praticamente inexistente esses tipos de trabalhos, bem como a determinação do tamanho de parcelas utilizados nos experimentos, que deve ser realizada de forma fundamentada, pois é uma das maneiras de se aumentar a precisão experimental e, conseqüentemente, maximizar as informações obtidas em um experimento. Nas espécies frutíferas não-tradicionais como Pitombeira, Cambucizeiro e Cambucazeiro não foram encontradas referências específicas que tratassem desse assunto. Portanto, este projeto tem como objetivo classificar os coeficientes de variação e determinar o número ideal de parcelas nos estudos de propagação de genótipos de Pitombeira, Cambucizeiro e Cambucazeiro, visando obter dados para servir de embasamento para futuras pesquisas. Objetiva-se também desenvolver e aprimorar um protocolo efetivo para micropropagação gerando conhecimentos básicos para a sustentação e exploração dessas culturas visando a manutenção e conservação dessas espécies.

Palavras-chave: *Campomanesia phaea*, Coeficiente de variação, *Plinia edulis*, Precisão experimental, *Talisia esculenta*, Tamanho de parcela.

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Atualmente o aumento do desmatamento dos grandes biomas nacionais para dar espaço à agropecuária extensiva tem acarretando em riscos de extinção de diversas espécies endêmicas desses ambientes. Dentre essas espécies, diversas frutíferas tropicais não-tradicionais com potencial agroindustrial, econômico e nutracêutico, ainda pouco exploradas, podem vir a desaparecer.

Para tentar amenizar esses problemas a manutenção de bancos de germoplasma dessas espécies é de grande importância. As frutíferas nativas desses biomas, além de serem fonte de alimento para a fauna, podem ser cultivadas para obtenção como fonte de renda para pequenos produtores.

Por essas razões os estudos de propagação para manutenção dessas espécies frutíferas tropicais não-tradicionais em bancos de germoplasma *in vitro* e *ex vitro* podem ajudar na manutenção desses genótipos importantes para esses ambientes.

Para a manutenção dos bancos ativos de germoplasma e nos estudos de propagação de espécies de interesse econômico a conservação *in vitro*, pelas técnicas da cultura de tecidos, tem sido utilizada e aperfeiçoada. Na conservação de espécies vegetais, os trabalhos vêm utilizando o maior número de repetições possíveis por tratamento devido à grande variabilidade do material e do tempo em que será testado sem subcultivo. Esse fato limita o financiamento pelas agências de fomento devido ao aumento do custo, do tempo para avaliação e os gastos com materiais para a execução dos projetos (PEIXOTO; FARIA; MORAIS, 2011).

Como o foco central da experimentação científica é detectar diferenças significativas entre os tratamentos a serem testados, fato dependente da precisão experimental, tende-se aumentar a exatidão nos ensaios e minimizar os erros experimentais, devendo ser realizado previamente um bom planejamento (CELANTI, 2016a).

O investimento em pesquisas, visando a geração de novas técnicas de produção e preservação destas frutíferas tropicais não-tradicionais, é fundamental para a ampliação das atividades agrícolas no Noroeste Paulista, e também contribui para um maior conhecimento sobre a botânica e fenologia destas espécies. Além de contribuir para a exploração racional e comercial dessas espécies, esses estudos possibilitarão a preservação de importantes materiais genéticos e servirão para utilização imediata ou para futuros trabalhos de melhoramento genético.

Desta forma, este projeto tem como objetivo classificar os coeficientes de variação, determinar o número ideal de parcelas, desenvolver e aprimorar um protocolo efetivo para micropropagação nos estudos de propagação de genótipos de Pitombeira, Cambucizeiro e Cambucazeiro, visando gerando conhecimentos básicos para a sustentação e exploração dessas culturas mantendo por meio de banco de germoplasma *ex vitro* e *in vitro* para conservação dessas espécies.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Fruticultura: frutíferas nativas não-tradicionais e a propagação

A fruticultura é uma das melhores opções para diversificação das atividades agrícolas, além de ser uma atividade capaz de gerar renda em áreas relativamente pequenas, demanda uso intensivo de mão-de-obra.

O Brasil é um dos principais produtores de frutas do mundo, segundo FAOSTAT (2017), o país alcança o sétimo lugar em produção de frutas tropicais e o Estado de São Paulo se sobressai como maior produtor, ofertando mais de 15 milhões de toneladas de frutas de várias espécies (CARVALHO, 2017).

A variabilidade de espécies frutíferas na América tropical é muito grande e está associada às características geográficas da região, especialmente a heterogeneidade da flora da América do Norte e do Sul e a sobreposição parcial entre a Amazônia e a América Central mais baixa (RUFINO et al., 2010).

Cerca de mil espécies, pertencentes a 80 famílias, foram identificadas somente na América, sendo pelo menos 400 ocorrentes ou originários do Brasil (MARTIN; CAMPBELL; RUBERTÉ, 1987; DONADIO, 1993; ALVES et al., 2008).

O crescente reconhecimento do valor nutricional e terapêutico das frutas tropicais tradicionais (banana, manga, goiaba, abacaxi, entre outras) tem aumentado o consumo nos mercados domésticos e internacionais e o Brasil possui grande quantidade de espécies exóticas e nativas não-tradicionais subexploradas, com potencial para a agroindústria e fonte de renda para a população local (RUFINO et al., 2010).

As frutíferas tradicionais vêm perdendo competitividade e rentabilidade devido às restrições de cultivo em determinadas regiões ou pelas novas demandas e exigências por alimentos funcionais (RUFINO, 2008). As frutíferas tropicais não-tradicionais vêm sendo avaliadas como alternativa para suprir tais exigências, constituindo oportunidades para os produtores locais terem acesso a mercados especiais onde os consumidores apreciam o caráter exótico (ALVES et al., 2008).

Todas as frutíferas de modo geral necessitam ser cultivadas racionalmente, conservadas e caracterizadas, visando a preservação de germoplasma para estudos futuros. O conhecimento prévio da variabilidade genética existente nas espécies é necessário para subsidiar estratégias de prospecção e coleta de genótipos que, após caracterização, poderão ser empregados em programas de melhoramento. Esses estudos poderão auxiliar para suprir as exigências do mercado interno e externo no consumo de alimentos funcionais, por novos sabores, cores, texturas, obtendo genótipos mais produtivos, frutos de qualidade, aumentando a renda do produtor e a qualidade do produto oferecido no mercado (RUFINO, 2008; ROCHA et al., 2011; COSTA et al., 2015).

A grande maioria dessas frutíferas tropicais não-tradicionais não possuem variedades ou cultivares definidas, sendo a atividade puramente extrativista, cuja ameaça pelo desmatamento irracional é preocupante, contribuindo para a perda desse valioso germoplasma e até mesmo à extinção de genótipos. Entre essas espécies tropicais não-tradicionais a Pitombeira, o Cambucizeiro e o Cambucizeiro se destacam.

A Pitombeira (*Talisia esculenta* Radlk – Sapindaceae), espécie de interior de matas primárias ou formações secundárias de Cerrado, Mata Atlântica e Floresta Amazônica, possuem frutos de polpa carnosos e adocicados ricos em vitaminas e popularmente apreciados nas regiões Norte e Nordeste do País, sendo consumidos *in natura*, na fabricação de compotas, geleias e doces com sabor semelhante ao do damasco (VIEIRA; GUSMÃO, 2008; CARDOSO et al., 2015).

Essa frutífera também é utilizada como planta medicinal, usada pela população como agente adstringente, antidiarréica, hidratante e no tratamento de dores nas costas e problemas renais (RIET-CORRÊA et al., 2014).

Extratos dessa planta vem sendo pesquisados como inseticida natural no biocontrole de *Anticarsia gemmatalis* (MACEDO et al., 2011) e *Diatraea saccharalis* (FREIRE et al., 2012), além de trabalhos citando sua capacidade antifúngica, anti-inflamatória (KUBOTA et al., 2009), antioxidante, antiproliferativa e anti-mutagênica, com possibilidade de aplicação como antioxidante natural para suplementos e ingrediente funcional para produtos alimentícios (NERI-NUMA et al., 2014).

Sua propagação é por via sexuada, as sementes apresentam curta longevidade, sendo necessária a semeadura logo após a extração dos frutos, sendo considerada recalcitrante (CARDOSO et al., 2015; SENA et al., 2016). Devido às características adaptativas ao ambiente ripário, rápido crescimento e abundante produção de sementes é uma espécie indicada para recuperação das matas ciliares (VIEIRA; GUSMÃO, 2008) e apesar de sua importância sócio-econômica e ecológica a Pitombeira é pouco estudada.

O Cambucizeiro [*Campomanesia phaea* (Berg.) Landr. – Myrtaceae], encontrada nos Estados de São Paulo e Minas Gerais, é uma das espécies ameaçadas de extinção devido à exploração predatória da sua madeira para fabricação de ferramentas e também pelo desmatamento (SILVA et al., 2012; AZEVEDO et al., 2017). Portanto, essa frutífera necessita de maiores estudos quanto aos métodos propagativos, seleção de genótipos mais produtivos e conservação.

O baixo teor de carboidratos e a elevada acidez faz do cambuci limitado para o consumo *in natura*, entretanto apresenta grande potencial para a industrialização, pois também apresenta alto rendimento de polpa, excelentes concentrações de vitamina C e compostos fenólicos, características importantes para preparação de sucos, sorvetes e bebidas alcoólicas (VALLILO et al., 2005; GENOVESE et al., 2008; HAMINIUK et al., 2011; DONADO-PESTANA, 2015; BIANCHINI, 2016). Os frutos ainda possuem em sua constituição óleos essenciais com aroma agradável e múltiplas aplicações comerciais, principalmente como agente aromatizante para alimentos e bebidas (ADATI; FERRO, 2017).

Outra frutífera tropical não-tradicional de importância é o cambucizeiro [*Plinia edulis* (Vell.) Sbral – Myrtaceae]. Essa espécie tem sido usada na medicina popular no tratamento de distúrbios estomacais, diabetes, bronquites, inflamações e como tônico, comprovada cientificamente devido a presença de flavonoides e triterpenoides, sugerindo que essa planta seja uma opção para produção de fármacos naturais e até antineoplásicos (CARVALHO; ISHIKAWA; GOUVÊA, 2012; DONATO; MORRETES, 2013; ISHIKAWA et al., 2014; AZEVEDO et al., 2016).

Nativa e endêmica da floresta Atlântica, bioma brasileiro que originalmente cobria cerca de 1,3 milhão de km², e que o contínuo desmatamento e fragmentação colocou entre os ecossistemas mais ameaçados do mundo colocando diversas espécies em risco de extinção (FERNANDEZ et al., 2017) faz com que essa frutífera necessite, a curto prazo, de maior atenção.

Não são conhecidos pomares organizados ou bancos de germoplasmas destas frutíferas, encontrando-se apenas alguns produtores de mudas. Geralmente estas frutíferas multiplicam-se por reprodução sexuada, porém problemas relacionados com o armazenamento e dormência das sementes dificultam sua germinação. Este tipo de reprodução pode prolongar o período de crescimento vegetativo das plantas, demorando para iniciar e/ou estabilizar a produção de frutos inviabilizando o cultivo em larga escala e aumentando a variabilidade entre as plantas. Esta variabilidade, embora importante para programas de melhoramento, é intolerável para o cultivo econômico e racional das culturas.

Para o desenvolvimento de métodos eficientes de propagação, afim de multiplicar com segurança os genótipos selecionados, se faz necessário que se conheçam informações sobre a propagação destas plantas, etapa crucial no processo de produção, pois possibilita a obtenção de plantas com melhor capacidade adaptativa às condições adversas do campo (MEDEIROS et al., 2015).

Uma das alternativas para auxiliar nesse processo é a propagação *in vitro*, geralmente denominada micropropagação, que é um método que permite a clonagem num curto espaço de tempo, em condições bem estabelecidas de um grande número de plantas. Auxiliando a seleção, produção de mudas e servindo como base para a manutenção dos bancos de germoplasma *in vitro*.

Apesar dos grandes avanços das técnicas de cultura de tecidos, o desenvolvimento e a otimização de protocolos eficientes que estimule a organogênese e/ou embriogênese em plantas lenhosas é muito limitado, fato que se deve à recalcitrância da maioria dessas espécies. Em relação as espécies citadas não foram encontrados protocolos de estabelecimento, multiplicação e conservação *in vitro*.

Uma vez que não se pode utilizar como base protocolos de outras espécies pois o comportamento/resposta varia até mesmo entre cultivares ou variedades, se faz necessário estabelecer protocolos *in vitro* para cada uma dessas frutíferas tropicais não-tradicionais citadas.

2.2. Planejamento experimental: classificação do coeficiente de variação e tamanho ótimo de parcelas

As técnicas da cultura de tecidos, têm sido utilizadas e aperfeiçoadas para a manutenção dos bancos ativos de germoplasma e nos estudos de propagação de espécies de interesse econômico. De modo geral as pesquisas científicas vêm utilizando o maior número de repetições possíveis por tratamento devido à grande variabilidade do material e do tempo em que será testado sem subcultivo, aumentando os custos para a execução dos projetos, fato que pode ser limitante para o financiamento pelas agências de fomento (PEIXOTO; FARIA; MORAIS, 2011).

Como o foco central de um experimento é detectar diferenças significativas entre tratamentos testados,

o que depende da precisão experimental, deve ser realizado o devido planejamento experimental. No planejamento de qualquer experimento, a definição do projeto experimental constitui na mais importante etapa, e será de acordo com a cultura estudada, das influências ambientais, mão-de-obra disponível, tempo de execução necessário, entre outros fatores.

A precisão do experimento é influenciada por vários fatores: tamanho e forma de parcelas, forma de bloco, número de repetições, delineamento experimental, falhas de plantas nas parcelas e forma de condução do experimento (SILVA, 2009; FIRMINO et al., 2012). Todos os fatores citados requerem grande atenção e, conseqüentemente, a caracterização adequada destes contribui para obter precisão nos ensaios experimentais.

O coeficiente de variação é a medida mais utilizada na avaliação da precisão dos experimentos, apesar das restrições ao seu uso, devendo ser cuidadosamente estudado tornando-se uma ferramenta importante na tomada de decisão do pesquisador. Quando essa precisão é expressa em medidas que não possuem referencial ou métodos capazes de demonstrar sua utilidade, como o caso do coeficiente de variação, a avaliação da precisão experimental torna-se duvidosa. A baixa precisão dos experimentos pode levar a conclusões incorretas dos resultados, apontando igualdade entre tratamentos quando na verdade há diferença (JUDICE et al., 2002; FERREIRA et al., 2016).

Com a vantagem de ser adimensional, independente da unidade de medida utilizada, o coeficiente de variação é uma medida de variabilidade que mede o percentual da relação entre o desvio padrão e a média aritmética (FERREIRA, 1991). Segundo Silva et al. (2011) e Stork et al. (2011) a publicação desses indicadores, obtidos com base no maior número de experimentos semelhantes possíveis, possibilita o pesquisador estabelecer faixas que orientem na avaliação da qualidade e precisão da pesquisa.

Nas pesquisas agrícolas os valores do coeficiente de variação dos experimentos variam de acordo com a natureza do ensaio e da cultura em avaliação, ocorrendo a necessidade de estabelecimento de classificações específicas para a realidade de cada espécie de interesse agrícola (CRUZ et al., 2012; FRITSCH NETO et al., 2012; COUTO; PETERNELLI; BARBOSA, 2013; FERREIRA et al., 2016).

A base científica para a comparação do coeficiente de variação dos pesquisadores da área agrícola é a que foi sugerido por Pimentel-Gomes (2009), que classificou os coeficientes de variação em baixo (inferior a 10%), médio (entre 10 e 20%), alto (entre 20 e 30%) e muito alto (superior a 30%), sendo utilizada para classificar coeficientes de variação de diferentes variáveis indiscriminadamente dentro da experimentação agrícola (GARCIA, 1989; WERNER et al., 2012; FERREIRA et al., 2016). O problema de utilizar essa classificação não consiste apenas em generalizar todos os experimentos como se fossem agrícolas, mas sim generalizar todas as variáveis e tipos de experimentação aos quais os dados se referem.

Desta forma, há necessidade da determinação de uma nova classificação dos coeficientes de variação para a realidade das demais espécies e áreas de pesquisas (WERNER et al., 2012). Essa classificação já foi proposta para diversas culturas como eucalipto e pinus (GARCIA, 1989), milho (SCAPIM; CARVALHO; CRUZ, 1995), leguminosas forrageiras (CLEMENTE; MUNIZ, 2000), arroz (COSTA; SERAPHIN; ZIMMERMANN, 2002), erva-mate (STORCK et al., 2002), gramínea forrageira (CLEMENTE & MUNIZ,

2002), soja (CARVALHO et al., 2003), meloeiro (LIMA; NUNES; BEZERRA NETO, 2004), pimenteira (SILVA et al., 2011) e também para experimentos na cultura de tecidos (WERNER et al., 2012).

A determinação do tamanho ideal das parcelas em experimentos científicos deve ser realizada de forma fundamentada pois irá influenciar na redução da variabilidade experimental sobre os resultados obtidos melhorando a precisão, reduzindo o erro experimental e aumentando as chances de se detectar diferenças entre os tratamentos (MUNIZ et al., 2009; STORCK et al., 2011; LEONARDO et al., 2014; CELANTI et al., 2016), especialmente quando a pesquisa é demorada e operosa (LORENTZ; ERICHSEN; LÚCIO, 2012; SILVA et al., 2015).

Não foram encontrados trabalhos relacionados a classificação do coeficiente de variação para frutíferas tropicais não-tradicionais em campo, casa-de-vegetação ou *in vitro*, bem como de outros aspectos experimentais assim como tamanho ótimo de parcelas experimentais, que se constitui ferramenta importante para a garantia da precisão experimental.

Teoricamente, quanto maior o tamanho da parcela menor o erro experimental, entretanto essa relação não é linear, pois à medida que cresce o tamanho da parcela diminui o erro experimental, mas depois de um determinado tamanho o ganho em precisão é muito pequeno (PIMENTEL-GOMES, 2009; FIRMINO et al., 2012; CARGNELUTTI FILHO et al., 2012; SOUSA et al. 2015ab).

Schmidt et al. (2016) certificaram que existe um tamanho ótimo da parcela para cada caractere em cada cultura e a pesquisa para essa determinação pode ser realizada em situações distintas e para várias plantas cultivadas, como abacaxi (LEONARDO et al., 2014), maracujá (PEIXOTO; FARIA; MORAIS, 2011; STORCK et al., 2014), canola (CARGNELUTTI FILHO et al., 2015), girassol (SOUSA et al., 2015ab), mamão (LIMA et al., 2007; BRITO et al., 2012; CELANTI et al., 2016a; FERREIRA et al., 2016; SCHMILDT et al., 2016) e videira (MORAIS et al., 2014).

Deste modo, o tamanho ótimo de parcela assume grande importância, pois parcelas pequenas aumentam o número de repetições, enquanto que parcelas grandes apresentam menor variância e são estatisticamente mais desejáveis.

Existem vários métodos para essa determinação como o método da máxima curvatura (CELANTI et al., 2016b), método da máxima curvatura modificada (SANTOS et al., 2015), método de regressão linear e quadrática segmentada com platô (PEIXOTO; FARIA; MORAIS, 2011), método de Hatheway (CELANTI et al., 2016a), método de comparação de variâncias (DONATO et al., 2008) entre outros.

Esses métodos utilizam ensaios em branco, também chamados de ensaio de uniformidade, onde não são aplicados nenhum tipo de tratamento, toda a área experimental é plantada com uma única espécie, variedade, cultivar e são utilizadas práticas idênticas de cultivo, sem efeitos de tratamentos. Estes ensaios servem para verificar a variabilidade experimental do material utilizado, bem como estimar o tamanho ótimo de parcela e número de repetições.

O método da máxima curvatura foi um dos primeiros métodos a ser utilizado na determinação do tamanho de parcela experimental (FERREIRA, 2000), é assim denominado pela maneira com que o tamanho

ótimo da parcela é determinado (FEDERER, 1955). Os dados das características avaliadas originados de um ensaio de uniformidade são coletados em unidades básicas e os dados das unidades básicas adjacentes são combinados de modo a formar vários tamanhos de parcelas. Nesse método pode se calcular qualquer índice de variabilidade como variância, coeficiente de variação ou erro padrão da média (FERREIRA, 2000).

Constitui desvantagens deste método a não consideração dos custos envolvidos, a suscetibilidade da identificação do ponto de máxima curvatura ao tamanho da unidade básica e da escala de mensuração adotada (FEDERER, 1955), uma vez que, não existe um critério único de determinação desse ponto na curva.

O método da máxima curvatura modificado foi criado com objetivo de eliminar a influência da escala dos eixos coordenados na determinação do ponto de máxima curvatura. Lessman & Atkins (1963) propuseram uma alteração no método da máxima curvatura incorporando o coeficiente de heterogeneidade do solo proposto por Smith (1938), deste modo, estabeleceram uma relação entre coeficiente de variação e o tamanho da parcela, representada por uma equação de regressão do tipo potencial que define a relação entre a variância da produção por área unitária e o tamanho de parcela em unidades básicas.

Já o método de comparação de variâncias depende de um critério de classificação adotado com o intuito de obter os tamanhos de parcela. As estimativas das variâncias originais (\hat{V}_i) para os tamanhos de parcelas obtidas por meio da análise de variância são corrigidas em relação à menor unidade de classificação hierárquica, e as estimativas das variâncias reduzidas $\hat{V}(x_i)$ em relação a uma unidade básica são obtidas dividindo-se as variâncias corrigidas (\hat{V}_i'), dos diferentes tamanhos de parcelas, pelos seus respectivos números de unidades básicas, como se segue. Em seguida, aplicam-se consecutivos testes de Bartlett para testar homogeneidade das variâncias (GOMEZ; GOMEZ, 1984; NUNES, 1998), excluindo-se em cada teste, a menor parcela com variância significativamente diferente. Quando um grupo de parcelas de diferentes tamanhos com variâncias estatisticamente similares é encontrado, o menor tamanho de parcela deste grupo representará o tamanho ideal da unidade experimental. O procedimento que é adotado para verificar a homogeneidade das variâncias é o teste de Bartlett.

O modelo platô de resposta linear possui dois segmentos, o primeiro descreve uma reta crescente ou decrescente até uma determinada altura P que é o Platô. A partir desse o valor de Y_i assume um valor constante P , que é o segundo segmento. Paranaíba, Ferreira e Morais (2009) verificaram que este método foi adequado para a obtenção do tamanho ótimo de parcelas experimentais. O modelo platô de resposta linear permite a comparação de combinações alternativas de retas e platôs e escolhe, como melhor opção de ajustamento, a combinação que tenha a soma de quadrados de desvio.

3. OBJETIVOS

Desenvolver um protocolo de micropropagação *in vitro*, classificar a variabilidade por meio dos coeficientes de variação e determinar o tamanho ótimo de parcelas nos estudos de propagação de genótipos

das espécies de Pitombeira, Cambucizeiro e Cambucazeiro visando obter dados para servir de embasamento para futuras pesquisas com frutíferas tropicais não-tradicionais na cultura de tecidos.

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos deste projeto são:

- 1- Coletar frutos nas diversas regiões do Estado de São Paulo e Estados vizinhos e realizar a descrição dos genótipos;
- 2- Avaliar as características físico-químicas dos frutos coletados;
- 3- Realizar ensaios para germinação de sementes *ex vitro* para obtenção de explantes para propagação *in vitro*;
- 4- Desenvolver protocolos para regenerar plantas *in vitro* via organogênese a partir de segmentos nodais;
- 5- Aclimatar as plantas obtidas *in vitro*;
- 6- Classificar o coeficiente de variação para cada variável avaliada nos ensaios;
- 7- Determinar o tamanho ótimo de parcelas para cada experimento;
- 8- Avaliar os resultados e publicar trabalhos pertinentes ao projeto.

5. RESULTADOS ESPERADOS

Com esse projeto de pesquisa espera-se:

- 1- Caracterizar e definir genótipos regionais e selecionar aqueles de maior potencial econômico e ambiental;
- 2- Determinar e aprimorar os métodos para produção de mudas por sementes e propagação *in vitro*;
- 3- Expandir estes cultivos em diferentes regiões de São Paulo e Estados vizinhos como frutíferas alternativas a serem exploradas, inclusive, em sistemas de agricultura familiar;
- 4- Criar o primeiro banco de germoplasma *in vitro* e *ex vitro* da Região Noroeste de São Paulo de Pitombeira, Cambucizeiro e Cambucazeiro, resguardando desta forma a variabilidade genética, importantes para a diversificação de frutíferas no Estado de São Paulo;
- 5- Classificar o coeficiente de variação das variáveis avaliadas para cada ensaio para que possa servir como base para pesquisas futuras nessa área de pesquisa;
- 6- Determinar o tamanho ótimo de parcelas para esses tipos de experimentos para que sirva de base para pesquisas emergentes de modo a se economizar material de pesquisa mantendo a precisão experimental dos dados obtidos;
- 7- Gerar conhecimentos básicos para a sustentação e exploração dessas culturas visando a manutenção por meio de banco de germoplasma *ex vitro* e *in vitro* para conservação dessas espécies em risco de extinção.

6. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios serão conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista ‘Júlio de Mesquita Filho’ em Ilha Solteira/SP. As frutíferas utilizadas serão localizadas e demarcadas nas diversas regiões de São Paulo, Mato Grosso do Sul e Goiás.

6.1 Caracterização das plantas

A metodologia de estudo para as diversas frutíferas tropicais não-tradicionais envolve inicialmente a identificação de áreas com maior concentração das espécies estudadas. Em cada área serão marcadas plantas em número variável, mínimo de dez plantas, realizando-se estudos relativos à fenologia das plantas: crescimento vegetativo (formato, cor e tamanho das folhas, crescimento dos ramos), dormência (ocorrência ou não), floração (cor e classificação das flores e época de ocorrência) e frutificação (tipo, coloração e tamanho dos frutos e época de colheita).

6.2 Caracterização físico-química dos frutos

Serão avaliados os seguintes parâmetros físicos dos frutos coletados: massa da polpa, casca, semente e total do fruto (g); número de sementes por fruto; formato do fruto (definindo formatos e dimensões, mediante análise visual); coloração da casca: por não existir uma carta de cores específica na determinação da cor da casca das frutíferas estudadas, será determinada com auxílio da Munsell Soil Charts, utilizadas para identificar cores de solo.

Quanto aos parâmetros químicos dos frutos serão avaliados: pH; acidez titulável; sólidos solúveis totais (°Brix); açúcares totais (redutores e não redutores).

6.3 Produção de mudas por sementes

As sementes dos frutos serão coletadas e avaliadas conforme teste de emergência para determinação do vigor e viabilidade das sementes logo após a coleta e despolpa dos frutos, conforme determinado para cada espécie.

Para Pitombeira, as sementes serão extraídas manualmente, submetidas à fermentação por quatro dias e lavagem em água corrente para a retirada do arilo (ALVES et al., 2008; ALVES et al., 2009) e secas por 6 horas a 40°C (CARDOSO et al., 2015). Para cambucizeiro e cambucazeiro não foi relatado metodologia para produção de mudas por sementes, assim será realizado testes para determinar o melhor método.

As sementes serão semeadas em sacos plásticos para mudas preenchidos com composto orgânico. Será avaliado: início da emergência (dias); tempo médio de emergência (dias^{-1}); índice de velocidade de emergência (dia^{-1}) e porcentagem de emergência (%).

O material será colocado em casa de vegetação com sistema Pad&Fan (temperatura média controlada em 28 ± 3 °C e umidade relativa média de 56 ± 2 %) e irrigação controlada 3 vezes ao dia por 5 min ($1800 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$), para obtenção de material propagativo.

Serão avaliados semanalmente: comprimento da parte aérea (cm), diâmetro do caule (mm), número de folhas, número de entrenós (para obtenção de segmentos nodais). Aos 120 dias após a semeadura uma amostra das mudas será realizada as seguintes variáveis: número de folhas, área foliar, comprimento da parte aérea

(cm), diâmetro do caule (mm), comprimento (cm) e volume do sistema radicular (mm^3), matéria seca da parte aérea e do sistema radicular (g), e as relações de crescimento (RAD, RPASR, RMS, IQD).

As plantas serão transplantadas para campo para manutenção do banco de germoplasma *ex vitro*.

6.4 Propagação *in vitro*

Para o estudo da organogênese e embriogênese somática se faz necessário o cultivo do material vegetal *in vitro*, portanto como ponto de partida as sementes dos genótipos coletados serão inicialmente estabelecidas *ex vitro* para obtenção dos explantes. Estes segmentos serão numerados de acordo com a proximidade em relação ao ápice, para que posteriormente se possa discriminar a existência de zonas com maior potencial organogênico.

6.5 Organogênese a partir de segmentos nodais

Será utilizado de cada espécie segmentos nodais com aproximadamente 1 cm de comprimento contendo uma gema cada, os quais serão imersos em álcool 70% (v:v) por um minuto, posteriormente em solução de 1% de cloro ativo (Qboa[®]) juntamente com três gotas de detergente neutro (Tween 20[®]) por 30 minutos. O triplo enxágue será realizado em câmara de fluxo laminar utilizando-se água destilada e autoclavada.

Após a tríplice lavagem os segmentos nodais serão inoculados verticalmente em tubos de ensaio (2,5 x 15 cm) contendo 20 mL do meio de cultivo, vedados com tampa plástica transparente e mantidos em sala de crescimento sob fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25 ± 3 °C e radiação fotossintética ativa de $45-55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Será utilizado os meios MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) e WPM (LLOYD; MCCOWN, 1980) com 25, 50, 75 e 100 % dos sais. Serão acrescidos aos meios, as vitaminas propostas por White (1943), 30 g L^{-1} de sacarose, o pH será ajustado em $5,7 \pm 0,3$ e solidificados com 5 g L^{-1} de ágar, e posteriormente autoclavadas por 20 minutos a 1 atm e 121°C.

Os parâmetros avaliados serão: frequência de gemas (% gemas \pm SE) e brotos (% brotos \pm SE); índice organogênico (Valor médio que se obtém, designando-se um valor arbitrário (0 a 3) a cada calo em função da intensidade da resposta organogênica. O valor designado considera tanto a extensão das zonas com gemas como o grau de desenvolvimento das mesmas, sendo: 0 = calo sem gema; 1 = Extensão de gemas em menos da metade do calo; 2 = Extensão de gemas aproximadamente na metade do calo; 3 = Proliferação quase total); número de brotos por explante; comprimento das brotações (cm); abscisão foliar; formação de calos (%); formação de raiz (%); comprimento da raiz (cm).

Posteriormente será avaliado a suplementação dos meios com concentrações de sacarose, volumes do meio, diferentes valores de pH e combinações de reguladores vegetais (AIA e BAP). Após a determinação de um protocolo eficiente de micropropagação as plantas desenvolvidas serão aclimatadas.

6.6 Análises estatísticas

Serão utilizados para os cálculos dados reais obtidos nos experimentos realizados. Os estudos estatísticos serão desenvolvidos no Laboratório de Estatística Aplicada (LEA), financiado pelo projeto

FAPESP 2015/18225-4, que dispõem de 21 computadores, programas computacionais e estrutura para desenvolver as análises estatísticas deste projeto.

6.6.1 Classificação do coeficiente de variação

As análises estatísticas referente ao ajuste do modelo bem como os gráficos ilustrativos, serão realizados com o auxílio do software R[®] versão 3.2.0.

Para classificação do coeficiente de variação nos experimentos, formularemos duas propostas de classificação para as variáveis analisadas, definindo as faixas de classificação do CV, duas propostas para dados normalmente distribuídos e uma para dados não normais. Para tal, consideraremos cada tratamento como ensaio em branco e serão realizadas diversas simulações.

Serão obtidos os valores médios de CV para cada variável em estudo e respectivos desvios padrões. Os coeficientes serão classificados em: baixo, médio, alto e muito alto conforme critérios de definição dos limites propostos por cada um dos métodos. Para dados normais, será utilizado o critério de Garcia (1989), de acordo com o autor, os limites de classes são definidos com base no valor médio de CV mais ou menos o desvio padrão, como segue: Baixo: $CV \leq (CV_{\text{médio}} - S)$, Médio: $(CV_{\text{médio}} - S) < CV \leq (CV_{\text{médio}} + S)$, Alto: $(CV_{\text{médio}} + S) < CV \leq (CV_{\text{médio}} + 2S)$, Muito Alto: $CV > (CV_{\text{médio}} + 2S)$.

Para dados não normais será utilizado o critério de Costa, Seraphin e Zimmermann (2002), que se baseia no uso da mediana (Md) e do pseudo-sigma (PS), como segue: Baixo: $CV \leq (Md - PS)$, Médio: $(Md - PS) < CV \leq (Md + PS)$, Alto: $(Md + PS) < CV \leq (Md + 2PS)$, Muito Alto: $CV > (Md + 2PS)$, em que: $Md = (Q1 + Q3)/2$ é a mediana dos coeficientes de variação, Q1 e Q3 são o primeiro e terceiro quartis, respectivamente, os quais delimitam 25% de cada extremidade da distribuição e $PS = IQR/1,35$ é o pseudo-sigma sendo IQR, amplitude interquartílica ($IQR = Q3 - Q1$).

Os dois métodos serão comparados pois de acordo com Costa, Seraphin e Zimmermann (2002) quando os dados não têm distribuição normal, o uso do pseudo-sigma como uma medida de dispersão será mais resistente que o desvio padrão (s) clássico e se os dados têm distribuição aproximadamente normal, o pseudo-sigma produz uma estimativa próxima de s, que é o desvio-padrão da amostra (HOAGLIN; MOSTELLER; TUKEY, 1983; BLANXART et al., 1992).

6.6.2 Estimativa do tamanho ótimo de parcela

As análises estatísticas serão realizados com o auxílio do software R[®] versão 3.2.0.

6.6.2.1 Máxima curvatura

Os dados dos ensaios em branco serão coletados em unidades básicas e os dados das unidades básicas adjacentes serão combinados de modo a formar vários tamanhos de parcelas. As somas de quadrados entre as várias parcelas para um dado tamanho serão computadas e divididas pelos graus de liberdade para obter as

variâncias. Os coeficientes de variação nos ensaios em branco serão estimados por $CV_x = \frac{\sqrt{S_x^2}}{\bar{x}} \times 100$, sendo

$V_x = S_x^2$ a variância e \bar{x} a média das parcelas de x unidades básicas (LESSMAN; ATKINS, 1963; BAKKE,

1988).

Posteriormente, serão plotados os coeficientes de variação (CV) contra seus respectivos tamanhos (X) de parcelas num sistema de eixos coordenados, obtendo-se assim a curva que representa a relação inversa entre estas variáveis (X, CV), será traçada a curva (FEDERER, 1955) e o ponto da máxima curvatura será encontrado por inspeção visual, adotando-se como tamanho ótimo o valor correspondente à abscissa do ponto de máxima curvatura.

6.6.2.2 Máxima curvatura modificada

Os coeficientes de variação estimados pelo método anterior serão utilizados para relacionar o coeficiente de variação e o tamanho da parcela, ou seja, $CV_x = \frac{a'}{b^x}$, como ilustra Bakke (1988). Os parâmetros a e b serão estimados pelo método dos mínimos quadrados ponderados pelos respectivos graus de liberdade.

Assim, para a função $CV_x = \frac{a'}{b^x}$ o ponto de máxima curvatura será $X_{MC} = \frac{[a^2 b^2 (2b-1)]^{\frac{1}{(2-2b)}}}{(b-2)}$, em que: a é o coeficiente de regressão (intercepto); e b , coeficiente de regressão (inclinação).

6.6.2.3 Método de comparação de variância

As estimativas das variâncias originais (\hat{V}_i) para os tamanhos de parcelas obtidas por meio da análise de variância serão corrigidas em relação à menor unidade de classificação hierárquica, da seguinte forma:

$$\begin{aligned}\hat{V}_1^i &= \hat{V}_1 \\ \hat{V}_2^i &= \frac{[f(e-1)\hat{V}_2 + (f-1)\hat{V}_1]}{[f(e-1) + (f-1)]} \\ \hat{V}_3^i &= \frac{[fe(d-1)\hat{V}_3 + f(e-1)\hat{V}_2 + (f-1)\hat{V}_1]}{[fe(d-1) + f(e-1) + (f-1)]} \\ \hat{V}_4^i &= \frac{[fed(c-1)\hat{V}_4 + fe(d-1)\hat{V}_3 + f(e-1)\hat{V}_2 + (f-1)\hat{V}_1]}{[fed(c-1) + fe(d-1) + f(e-1) + (f-1)]} \\ \hat{V}_5^i &= \frac{[fedc(b-1)\hat{V}_5 + fed(c-1)\hat{V}_4 + fe(d-1)\hat{V}_3 + f(e-1)\hat{V}_2 + (f-1)\hat{V}_1]}{[fedc(b-1) + fed(c-1) + fe(d-1) + f(e-1) + (f-1)]} \\ \hat{V}_6^i &= \frac{[fedcb(a-1)\hat{V}_6 + fedc(b-1)\hat{V}_5 + fed(c-1)\hat{V}_4 + fe(d-1)\hat{V}_3 + f(e-1)\hat{V}_2 + (f-1)\hat{V}_1]}{[fedcb(a-1) + fedc(b-1) + fed(c-1) + fe(d-1) + f(e-1) + (f-1)]}\end{aligned}$$

em que:

\hat{V}_i = var iância original

\hat{V}_i^i = var iância corrigida

a = número de subsubsubparcelas em cada subsubparcela; b = número de subsubparcelas em cada subparcela;

c = número de subparcelas em cada parcela;

d = número de parcelas em cada bloco;

e = número de blocos em cada repetição;

f = número de repetições.

As estimativas das variâncias reduzidas $\hat{V}(x_i)$ em relação a uma unidade básica serão obtidas dividindo-se as variâncias corrigidas (\hat{V}'_i), dos diferentes tamanhos de parcelas, pelos seus respectivos

números de unidades básicas, como se segue: $\hat{V}_{x-1} = \frac{S'^2_{x_i}}{x_i}$. Em seguida, serão aplicados consecutivos testes de

Bartlett para testar homogeneidade das variâncias (GOMEZ; GOMEZ, 1984; NUNES, 1998), excluindo-se em cada teste, a menor parcela com variância significativamente diferente. Quando um grupo de parcelas de diferentes tamanhos com variâncias estatisticamente similares for encontrado, o menor tamanho de parcela deste grupo representará o tamanho ideal da unidade experimental. O teste de Bartlett (que apresenta diferentes graus de liberdade) utiliza a equação a seguir:

$$\chi^2 = \frac{M}{C} = \frac{2,3026 \left[\left(\sum_{i=1}^k f_i \right) \left(\log \frac{\sum_{i=1}^k (f_i)(S_i^2)}{\sum_{i=1}^k f_i} \right) - \sum_{i=1}^k (f_i)(S_i^2) \right]}{1 + \frac{1}{3(k-1)} \left(\sum_{i=1}^k \frac{1}{f_i} - \frac{1}{f_i} \right)}$$

em que: χ^2 valor calculado do teste do qui-quadrado, k número de variâncias; f_i , número de graus de liberdade de cada estimativa de variância reduzida $\hat{V}_{x_i} = S_i^2$. Para testar a homogeneidade das variâncias, as hipóteses serão: hipótese de nulidade $H_0 : \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \dots = \sigma_k^2$ e a hipótese alternativa H_a : pelo menos uma das variâncias difere das demais. Para avaliar a existência de homogeneidade de variâncias, será comparado o valor calculado com o valor crítico (ou tabelado) obtido no nível $\alpha\%$ de significância e com $k-1$ números de graus de liberdade (NUNES, 1998).

6.6.2.4 Modelo platô de resposta linear

O modelo platô de resposta linear possui dois segmentos, o primeiro descreve uma reta crescente ou decrescente até uma determinada altura P que é o Platô. A partir desse o valor de Y_i assume um valor constante P , que é o segundo segmento. O modelo platô de resposta linear é:

$$Y_i = \begin{cases} \beta_0 + \beta_1 X_i + \varepsilon_i & \text{se } X_i \leq X_0 \\ P + \varepsilon_i & \text{se } X_i > X_0 \end{cases}$$

em que Y_i é a variável resposta; β_0 é o intercepto do modelo linear simples do segmento anterior ao platô; β_1 é o coeficiente angular neste mesmo segmento, P é o platô e X_0 é o ponto de junção dos dois segmentos.

No que se refere a dimensionamento de tamanhos ótimos de parcelas, a teoria dos modelos lineares segmentados com platô é contextualizada da seguinte maneira:

$$CV_{(x)} = \begin{cases} \beta_0 + \beta_1 X_i + \varepsilon_i & \text{se } X_i \leq X_0 \\ CVP + \varepsilon_i & \text{se } X_i > X_0 \end{cases}$$

em que $CV_{(x)}$ é o coeficiente de variação entre totais de parcela de tamanho X ; X é o tamanho de unidades experimentais básicas agrupadas, X_0 é o tamanho ótimo de parcelas para o qual o modelo linear se transforma em um platô, em relação a abscissa; CVP é o coeficiente de variação no ponto correspondente ao platô; β_0 e β_1 são o intercepto e o coeficiente angular, respectivamente, do segmento linear e ε_i é o erro associado ao $CV_{(x)}$ supostamente normal e independentemente distribuído com média 0 e variância σ_ε^2 constante.

7. CRONOGRAMA

SEMESTRE / ANO	ETAPA
II/2017 a I/2018	Coleta de frutos e análise descritiva dos genótipos.
I/2018 a II/2018	Caracterização físico-química dos frutos; Testes de vigor das sementes; Ensaio para germinação e emergência <i>ex vitro</i> de sementes; Avaliação de métodos de produção de mudas para obtenção de explantes; Análises estatísticas; Relatório Parcial.
I/2019 a II/2019	Regeneração de plantas <i>in vitro</i> via organogênese a partir de segmentos nodais.
I/2020 a II/2020	Aclimação das plantas obtidas <i>in vitro</i> .
I/2020 a I/2021	Análises estatísticas; Relatório Final; Publicação de trabalhos pertinentes ao projeto.

8. REFERÊNCIAS

- ADATI, R. T.; FERRO, V. O. Volatile oil constituents of *Campomanesia phaea* (O. Berg) Landrum. (Myrtaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 18, n. 6, p. 691-692, 2006.
- ALVES, R. E. et al. Antioxidant activity measurement in tropical fruits: A case study with acerola. **Acta Horticulturae**, v. 773, p. 299–305, 2008.
- AZEVEDO, L. F. et al. Evidence of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Plinia edulis* leaf infusion. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 192, p. 178–182, 2016.
- AZEVEDO, M. C. S. et al. Physicochemical variability of cambuci fruit (*Campomanesia phaea*) from the same orchard, from different locations and at different ripening stages. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 2, p. 526–535, 2017.
- BAKKE, O. A. **Tamanho e forma ótimos de parcelas em delineamentos experimentais**. 1988. 142 p. Dissertação (Mestrado em Estatística e Experimentação Agronômica) – Escola Superior de Agricultura ‘Luiz de Queiroz’ (ESALQ), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1988.

- BIANCHINI, F. G. et al. Caracterização morfológica e química de frutos de cambucizeiro. **Bragantia**, v. 75, n. 1, p. 10-18, 2016.
- BLANXART, M. F. et al. **Análisis exploratorio de datos: nuevas técnicas estadísticas**. Barcelona: Promociones y Publicaciones Universitarias, 1992. 296 p.
- BRITO, M. C. M. et al. Estimação do tamanho ótimo de parcela via regressão antitônica. **Revista Brasileira Biometria**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 353-366, 2012.
- CARDOSO, E. A.; ALVES, E. U.; ALVES, A. U. Qualidade de sementes de pitombeira em função do período e da temperatura de secagem. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 1, p. 7-16, 2015.
- CARGNELUTTI FILHO, A. et al. Medidas de precisão experimental e número de repetições em ensaios de genótipos de arroz irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 3, p. 336-343, 2012.
- CARVALHO, A. J. S.; ISHIKAWA, T.; GOUVÊA, C. M. C. P. Aqueous extract of *Plinia edulis* leaves: Antioxidant activity and cytotoxicity to human breast cancer MCF-7 cell line. **South African Journal of Botany**, v. 81, p. 1-7, 2012.
- CARVALHO, C. et al. **Anuário brasileiro da fruticultura 2017**. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2017. 88 p. Disponível em: <http://www.editoragazeta.com.br/wp-content/uploads/2017/03/PDF-Fruticultura_2017.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2017.
- CARVALHO, C. G. P. et al. Proposta de classificação dos coeficientes de variação em relação à produtividade e altura da planta de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 2, p. 187-193, 2003.
- CELANTI, H. F. et al. Optimal plot size in the evaluation of papaya scions: proposal and comparison of methods. **Revista Ceres**, v. 63, n. 4, p. 469-476, 2016b.
- CELANTI, H. F. et al. Plot size in the evaluation of papaya seedlings 'Baixinho de Santa Amália' in tubes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, n. 3, e-533, 2016a.
- CLEMENTE, A. L.; MUNIZ, J. A. Avaliação do coeficiente de variação em experimentos com gramíneas forrageiras. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 1, p. 197-203, 2002.
- CLEMENTE, A. L.; MUNIZ, J. A. Estimativas de faixas de coeficientes de variação em leguminosas forrageiras para avaliação da precisão experimental. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 24, n. 3, p. 738-742, 2000.
- COSTA, F. R. et al. Análise biométrica de frutos de umbuzeiro do semiárido brasileiro. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 3, p. 682-690, 2015.
- COSTA, N. H. A. D.; SERAPHIN, J. C.; ZIMMERMANN, F. J. P. Novo método de classificação de coeficientes de variação para a cultura do arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 3, p. 243-249, 2002.
- COUTO, M. F.; PETERNELLI, L. A.; BARBOSA, M. H. P. Classification of the coefficients of variation for sugarcane crops. **Ciência Rural**, v. 43, n. 6, p. 957-961, 2013.
- CRUZ, E. A. et al. Coeficiente de variação como medida de precisão em experimentos com tomate em ambiente protegido. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 14, p. 221-233, 2012.
- DONADIO, L. C. Frutíferas nativas da América tropical. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS, 1993, Cruz das Almas. **Anais...** Cruz das Almas: Embrapa-CNPMP, 1993. p. 9-12.
- DONADO-PESTANA, C. M. Phenolic compounds from cambuci (*Campomanesia phaea* O. Berg) fruit attenuate glucose intolerance and adipose tissue inflammation induced by a high-fat, high-sucrose diet. **Food Research International**, v. 69, p. 170-178, 2015.
- DONATO, A. M.; MORRETES, B. L. *Plinia edulis* - leaf architecture and scanning electron micrographs. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 3, p. 410-418, 2013.
- DONATO, S. L. R. et al. Estimativas de tamanho de parcelas para avaliação de descritores fenotípicos em bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 8, p. 957-969, 2008.
- FAOSTAT – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS STATISTICS. Data de acesso: 23 de junho de 2017. Disponível em: <http://faostat.fao.org/>
- FEDERER, W. T. **Experimental Design: Theory and Application**. New York: Oxford & IBH, 1955. 591 p.
- FERNANDES, J. C. F. et al. Characterization of biogenic, intermediate and physcogenic soil aggregates of areas in the Brazilian Atlantic Forest. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 1, p. 59-67, 2017.
- FERREIRA, D. F. **Estatística Básica**. 1. ed. Minas Gerais: UFLA, 2005. 664p.

FERREIRA, J. P. et al. Comparison of methods for classification of the coefficient of variation in papaya. **Revista Ceres**, v. 63, n. 2, p. 138-144, 2016.

FERREIRA, P. V. **Estatística experimental aplicada à agronomia**. Maceió: EDUFAL, 1991. 437p.

FIRMINO, R. A. et al. Tamanho ótimo de parcela para experimentos com mudas de café Catuai Amarelo 2SL. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 6, n. 1, p. 9-12, 2012.

FREIRE, M. G. M. et al. Structural insights regarding an insecticidal *Talisia esculenta* protein and its biotechnological potential for *Diatraea saccharalis* larval control. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part B**, v. 161, n. 1, p. 86-92, 2012.

FRITSCH NETO R. et al. Updating the ranking of the coefficients of variation from maize experiments. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 34, n. 1, p. 99-101, 2012.

GARCIA, C. H. **Tabelas para classificação do coeficiente de variação**. Piracicaba, IPEF, 1989. 12p. (Circular técnica, 171).

GENOVESE, M. I. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits and commercial frozen pulps from Brazil. **Food Science and Technology International**, v. 14, n. 3, p. 207-214, 2008.

GOMEZ, K. A.; GOMEZ, A. A. **Statistical procedures for agricultural research**. 2. ed. New York: John Wiley, 1984. 680p.

HAMINIUK, C.W.I. et al. Chemical, antioxidant and antibacterial study of Brazilian fruits. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 7, p. 1529-1537, 2011.

HOAGLIN, D. C.; MOSTELLER, F.; TUKEY, J. W. **Understanding robust and exploratory data analysis**. New York: J. Wiley, 1983. 447 p.

ISHIKAWA, T. et al. Gastroprotective property of *Plinia edulis* (Vell.) Sobral (Myrtaceae): the role of triterpenoids and flavonoids. **Pharmacologyonline**, v. 1, p. 36-43, 2014.

JUDICE, M. G. et al. Avaliação da precisão experimental em ensaios com bovinos de corte. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 5, p. 1035-1040, 2002.

KUBOTA, T. et al. Volatile compounds from fruits of *Talisia esculenta* (A. St.-Hil.) Radlk. (Sapindaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, n. 3, p. 235-236, 2009.

LEONARDO, F. A. P. et al. Tamanho ótimo da parcela experimental de abacaxizeiro 'Vitória'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 4, p. 909-916, 2014.

LESSMAN, K. J., ATKINS, R. E. Optimum plot size and relative efficiency of lattice designs for grain sorghum yield test. **Crop Science**, v. 3, p. 477-481, 1963.

LIMA, J. F. et al. Tamanho ótimo de parcela para experimentos com plantas de mamoeiro em casa de vegetação. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 5, p. 1411-1415, 2007.

LIMA, L. L.; NUNES, G. H. S.; BEZERRA NETO, F. Coeficientes de variação de algumas características do meloeiro: uma proposta de classificação. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 1, p. 14-17, 2004.

LORENTZ, L. H.; ERICHSEN, R.; LÚCIO, A. D. Proposta de método para estimação de tamanho de parcela para culturas agrícolas. **Revista Ceres**, v. 59, n. 6, p. 772-780, 2012.

MACEDO, M. L. R. et al. Bioinsecticidal activity of *Talisia esculenta* reserve protein on growth and serine digestive enzymes during larval development of *Anticarsia gemmatalis*. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part C**, v. 153, p. 24-33, 2011.

MARTIN, F. W.; CAMPBELL, C. W.; RUBERTÉ, M. R. **Perennial edible fruits of the tropics: An inventory**. Washington: USDA, 1987. 247 p.

MEDEIROS, E. V. et al. População microbiana, disponibilidade de nutrientes e crescimento de umbuzeiro em substratos contendo resíduos orgânicos. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 3, p. 47-53, 2015.

MORAIS, A. R. et al. Estimação do tamanho de parcela para experimento com cultura de tecidos em videira. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 113-124, 2014.

MUNIZ, J. A. et al. Estudo do tamanho de parcelas experimentais em povoamentos de *Eucalyptus grandis* Hill, usando parcelas lineares. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 4, p. 1002-1010, 2009.

NERI-NUMA, I. A. et al. Preliminary evaluation of antioxidant, antiproliferative and antimutagenic activities of pitomba (*Talisia esculenta*). **Food Science and Technology**, v. 59, n. 2, p. 1233-1238, 2014.

NUNES, R. P. **Métodos para a pesquisa agrônômica**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, 1998. 564p.

- PARANAÍBA, P. F.; FERREIRA, D. F.; MORAIS, A. R. Tamanho ótimo de parcelas experimentais: proposição de métodos de estimação. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 27, n. 2, p. 255-268, 2009.
- PEIXOTO, A. P. B.; FARIA, G. A.; MORAIS, A. R. Modelos de regressão com platô na estimativa do tamanho de parcelas em experimento de conservação *in vitro* de maracujazeiro. **Ciência Rural**, v. 41, n. 11, p. 1907-1913, 2011.
- PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 15ª ed. Piracicaba: FEALQ, 2009. 451p.
- R Development Core Team **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2015. ISBN 3-900051-07-0.
- RIET-CORRÊA, F. et al. Poisoning by *Talisia esculenta* (A. St.-Hil.) Radlk in sheep and cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 26, n. 3, p. 412-417, 2014.
- ROCHA, W. S. et al. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1215-1221, 2011.
- RUFINO, M. S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.
- RUFINO, M. S. M. Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais. 2008. 237 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2008.
- SANTOS, A. M. P. B. et al. Tamanho ótimo de parcela para a cultura de girassol em três arranjos espaciais de plantas. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 4, p. 265-273, 2015.
- SCAPIM, C. A. S.; CARVALHO, C. G. P.; CRUZ, C. D. Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 5, p. 683-686, 1995.
- SCHMILDT, E. R. et al. Optimum plot size and number of replications in papaya field experimente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, n. 2, e-373, p. 1-9, 2016.
- SENA, L. H. M. et al. Storage of pitombeira seeds [*Talisia esculenta* (A. St. Hil) Radlk - SAPINDACEAE] in different environments and packagings. **Revista Árvore**, v. 40, n. 3, p. 435-445, 2016.
- SILVA, A. R. et al. Avaliação do coeficiente de variação experimental para caracteres de frutos de pimenteiras. **Revista Ceres**, v. 58, n. 2, p. 168-171, 2011.
- SILVA, I. G. et al. Characterization study of cambuci fruit [*Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum] and its application in jelly processing. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 83-90, 2012.
- SILVA, J. R. **Tamanho de parcela e efeito de bordadura em experimentos com meloeiro**. 2009. 142f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal Rural do Semi Árido, Mossoró, 2009.
- SILVA, P. S. et al. Sample size and sampling method for evaluation of characteristics of the sunflower. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 46, n. 1, p. 144-154, 2015.
- SMITH, H. F. An empirical law describing heterogeneity in the yields of agricultural crops. **Journal of Agricultural Science**, v. 28, n. 1, p. 1-23, 1938.
- SOUSA, R. P. et al. Optimum plot size for experiments with the sunflower. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 46, n. 1, p. 170-175, 2015.
- SOUSA, R. P. et al. Tamanho ótimo de parcela para avaliação do rendimento de grãos do girassol. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 1, p. 21-26, 2015.
- STORCK, L. et al. **Experimentação vegetal**. 3. ed. Santa Maria: UFSM, 2011. 200p.
- STORCK, L. et al. Precisão experimental em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Ciência Florestal**, v. 12, n. 1, p. 159-161, 2002.
- STORCK, L. et al. Scaling the number of plants per plot and number of plots per genotype of yellow passion fruit plants. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 36, n. 1, p. 73-78, 2014.
- VALLILO, M. I. et al. Características físicas e químicas dos frutos do cambucizeiro (*Campomanesia phaea*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 2, p. 241-244, 2005.
- VIEIRA, F. A.; GUSMÃO, E. Biometria, armazenamento de sementes e emergência de plântulas de *Talisia esculenta* Radlk. (Sapindaceae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 4, p. 1073-1079, 2008.
- WERNER, E. T. et al. Coeficiente de variação como medida da precisão em experimentos de cultura de tecidos de plantas. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v. 8, n. 1-2, p. 27-36, 2012.