

Seleção indireta para o tamanho da plântula no cultivo *in vitro* do maracujazeiro

(*Passiflora Giberti* N.E. Brown)

Indirect selection for the size of seedling *in vitro* cultivation of passion fruit (*Passiflora*

***Giberti* N. E. Brown)**

Selección indirecta para el tamaño de las plántulas en el cultivo *in vitro* de maracuyá

(*Passiflora Giberti* N.E. Brown)

Recebido: 18/06/2020 | Revisado: 01/07/2020 | Aceito: 09/07/2020 | Publicado: 24/07/2020

Tadeu Vilela de Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6237-1240>

Instituto Federal do Sul de Minas, Brasil

E-mail: tadeu.souza@ifsuldeminas.edu.br

Glauca Amorim Faria

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2474-4840>

Universidade Estadual Paulista, Brasil

E-mail: glauca.a.faria@unesp.br

Silvio de Castro Silveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0835-0828>

Fundação Educacional de Oliveira, Brasil

E-mail: silviodecs@gmail.com

Beatriz Garcia Lopes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2605-6443>

Universidade de São Paulo, Brasil

E-mail: biagarcialopes@gmail.com

João Domingos Scalon

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8884-1442>

Universidade Federal de Lavras, Brasil

E-mail: scalon@ufla.br

Joel Augusto Muniz

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1069-4136>

Universidade Federal de Lavras, Brasil

E-mail: joamuniz@ufla.br

Resumo

Sabe-se que a utilização de mudas de maior tamanho garante maior precocidade no pomar. Entretanto, para a cultura de tecidos de plantas, apenas o tamanho da plântula não é garantia de material com qualidade para propagação *in vitro*. Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi utilizar a análise de trilha para identificar qual ou quais variáveis avaliadas durante o processo de conservação *in vitro* exerceram maior influência direta no número de gemas viáveis disponíveis para posterior propagação. Os dados utilizados neste trabalho foram de um experimento de conservação *in vitro* de plantas de maracujá da espécie *Passiflora giberti* N. E. Brown. As variáveis avaliadas foram: comprimento, peso fresco, peso seco, vigor da plântula e número de gemas viáveis. Foram realizadas as análises de correlação simples, correlação parcial e a análise de trilha para descrever as relações de causalidade entre as mesmas. Essa metodologia de análise mostrou que o vigor da planta é a variável mais correlacionada e também a que apresenta maior efeito direto sobre o número de gemas viáveis disponíveis.

Palavras-chave: Análise de trilha; Propagação *in vitro*; Correlação.

Abstract

It is known that the use of larger seedlings ensures greater precocity in the orchard. However, for plant tissue culture, only the seedling size is no guarantee of quality material for *in vitro* propagation. In this sense, the objective of this work was to use the trail analysis to identify which or which variables evaluated during the *in vitro* conservation process had the greatest direct influence on the number of viable buds available for further propagation. The data used in this work were from an *in vitro* conservation experiment of passion fruit plants of the species *Passiflora giberti* N. E. Brown. The variables evaluated were: length, fresh weight, dry weight, seedling vigor, and a number of viable buds. Simple correlation, partial correlation, and trail analysis were performed to describe the causal relationships between them. This analysis methodology showed that the vigor of the plant is the most correlated variable and also the one that has the greatest direct effect on the number of viable buds available.

Keywords: Path analysis; *In vitro* propagation; Correlation.

Resumen

Se sabe que el uso de plántulas más grandes asegura una mayor precocidad en el huerto. Sin embargo, para el cultivo de tejidos vegetales, solo el tamaño de las plántulas no es garantía de material de calidad para la propagación *in vitro*. En este sentido, el objetivo de este trabajo fue

utilizar el análisis de senderos para identificar qué o qué variables evaluadas durante el proceso de conservación *in vitro* tuvieron la mayor influencia directa en el número de gemas viables disponibles para una propagación posterior. Los datos utilizados en este trabajo provienen de un experimento de conservación *in vitro* de plantas de maracuyá de la especie *Passiflora giberti* N. E. Brown. Las variables evaluadas fueron: longitud, peso fresco, peso seco, vigor de las plántulas y número de yemas viables. Se realizaron correlaciones simples, correlaciones parciales y análisis de rastros para describir las relaciones causales entre ellos. Esta metodología de análisis mostró que el vigor de la planta es la variable más correlacionada y también la que tiene el mayor efecto directo sobre el número de brotes viables disponibles.

Palabras clave: Análisis de senderos; Propagación *in vitro*; Correlación.

1. Introdução

A importância e o estudo da cultura do maracujazeiro no Brasil estão crescendo consideravelmente, visto que o país é o maior produtor mundial de maracujá amarelo com uma produção em torno de 823.284 toneladas. Dentre as regiões brasileiras, o Nordeste destaca-se com 583.636 toneladas de frutos, seguido de sudeste e centro-oeste com 114.954 e 17.975 toneladas, respectivamente (Agrianual, 2017).

Durante o cultivo do maracujá, uma grande preocupação que surge é a forma de implantação e condução da lavoura. Entre os problemas mais significativos que fomentam essa preocupação durante o cultivo do maracujazeiro destacam-se a baixa produtividade, a não uniformidade da produção nas diferentes épocas de colheita dos pomares, além de problemas decorrentes de doenças e pragas (Neves et al., 2010; Sacoman et al., 2018; Silva et al., 2017).

A produção de plantas *in vitro* torna-se grande aliado para resolver tais problemas, pois além de trazer maior uniformidade aos pomares, pode promover maior produção do que as mudas convencionais, por serem obtidas a partir de matrizes selecionadas e estarem isentas de doenças sistêmicas.

A técnica mais utilizada para esse processo é a micropropagação, por ser utilizada para propagação massal e produzir plantas idênticas, tornando-a ferramenta útil para muitas espécies de importância econômica. As mudas geradas por essa técnica além da alta qualidade fitossanitária, apresentam capacidade de multiplicação mais rápida, homogeneidade, maior

vigor, produtividade e colheitas mais uniformes, resultando em produtos com valor agregado elevado, e possibilitando a otimização das práticas culturais.

O uso de mudas de maior tamanho no cultivo do maracujazeiro pode proporcionar antecipação da colheita, menor custo com insumos e pode favorecer a melhoria na qualidade dos frutos em relação ao plantio convencional (Santos et al., 2017). Na propagação *in vitro* ou micropropagação o tipo de explante mais utilizado na cultura do maracujazeiro são os segmentos nodais e ápices caulinares (Faria et al., 2017). Deste modo, para o processo de multiplicação *in vitro*, o tamanho da plântula cultivada assume papel coadjuvante, pois somente será dada a essa variável o status de importância se garantir um bom número de segmentos nodais disponíveis para o processo seguinte.

O estudo das correlações entre variáveis é aplicável em quase todos os campos de pesquisa. Na área de produção vegetal, o estudo das relações entre as variáveis envolvidas no melhoramento genético é um dos aspectos mais importantes a se considerar, pois possibilita a obtenção de ganhos para caracteres de interesse por meio da manipulação de outras características correlacionadas (Souza, 2013).

Deve-se ressaltar que o estudo de correlações não permite tirar conclusões sobre relações de causa e efeito entre caracteres, ou seja, a correlação é apenas uma medida de associação. Entretanto, se faz necessário conhecer as relações de causa e efeito presente entre as variáveis. Wright (1921) desenvolveu a análise de trilha (“*path analysis*”) que consiste em desdobrar as correlações, entre cada par de variáveis de um conjunto, em efeitos diretos e indiretos, sendo possível quantificar a influência direta de uma variável sobre a outra, independente das demais, no contexto de causa e efeito.

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo utilizar a análise de trilha para identificar, dentre as variáveis estudadas na conservação *in vitro* do maracujazeiro da espécie *Passiflora giberti* N.E. Brown, qual ou quais exerceram maior influência direta no número de gemas viáveis disponíveis para posterior propagação.

2. Metodologia

Os dados utilizados neste trabalho foram obtidos de um experimento de conservação *in vitro* de plantas de maracujá da espécie *Passiflora giberti* N. E. Brown, do Banco ativo de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, Bahia, conduzido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal.

Esses explantes foram dispostos em magentas contendo 20 mL do meio de cultura MS, suplementado com 10, 20 e 40 gL⁻¹ de sorbitol combinados com 0,15 e 30 gL⁻¹ de sacarose, mais uma testemunha, contendo 30 gL⁻¹ de sacarose, gelificado com 2 gL⁻¹ de phytigel, ajustado a um pH de 5,8 e sem adição de fitoreguladores. O cultivo foi realizado sob condições de fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 20 + 1 °C e densidade de fluxo de fótons 22 μmol m⁻² s⁻¹.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 20 repetições, sendo os tratamentos dispostos em esquema fatorial (3×3) + 1, sendo três concentrações de sacarose, três concentrações de sorbitol, mais uma testemunha, totalizando 10 tratamentos. Cada unidade experimental foi constituída de um explante por magenta.

Aos 150 dias de cultivo, foi realizada uma análise destrutiva para avaliação das seguintes variáveis: comprimento da plântula, peso seco da plântula, peso fresco da plântula, vigor da plântula e número de gemas viáveis. Maiores detalhes sobre o experimento e a coleta de dados podem ser encontrados em Peixoto, Faria e Morais (2011).

Foi realizada a análise exploratória dos dados para verificar a presença de pontos discrepantes e normalidade dos dados, foram realizadas análises de correlação simples, correlação parcial e foi realizada a análise de trilha. Segundo Souza et al. (2017), na etapa inicial da análise de trilha é indispensável elaborar um diagrama que estabeleça e exiba graficamente as relações hipotéticas de causa e efeito no conjunto de variáveis em estudo. Esse diagrama é construído combinando-se dois critérios: o conhecimento *a priori* das relações entre as variáveis em estudos (ou hipótese considerada de causa e efeito nessas variáveis) e o método da correlação parcial (Goldsmith, 1977).

Definindo-se um diagrama causal, aplicou-se o método da correlação parcial nas variáveis envolvidas no modelo com o objetivo de verificar a consistência dessa formulação de causas e efeitos. De acordo com esse critério, segundo Goldsmith (1977), se a diferença entre r_{ij} (correlação linear simples entre as variáveis X_i e X_j) e $r_{ij.k}$ (correlação parcial linear entre X_i e X_j , controlando para X_k) é alta, então pode ser aceito que X_k participa da trilha causal entre X_i e X_j . Essa diferença é escrita como

$$|r_{ij} - r_{ij.k}| = \Delta_{ij} \quad (1)$$

A significância estatística de (1) pode ser avaliada pela transformação de Fisher (1932), dada por

$$z = \frac{1}{2} \ln \left(\frac{1+r}{1-r} \right) \quad (2)$$

que é aproximadamente normal com média igual a $\mu(z) = \frac{1}{2} \ln \left(\frac{1+r}{1-r} \right) + \frac{r}{2n-1}$ e variância igual a $\sigma(z) = \frac{1}{\sqrt{n-3}}$, em que n é o número de observações independentes e r é a correlação linear simples entre as variáveis X_i e X_j .

Segundo Vasconcelos, Almeida e Nobre (1998), a equação (2) permite a classificação dos Δ_{ij} , de acordo com intervalos de desvio padrão. Na prática, se $\Delta_{ij} < \sigma$, implica que X_k não influencia a relação entre X_i e X_j , enquanto que se $\Delta_{ij} < 2\sigma$ implica que X_k é uma parte importante dessa relação.

As correlações foram estimadas usando o estimador da correlação linear de Pearson, considerando como valores nas variáveis, a média de cada tratamento dos experimentos. Por fim, foram feitas todas as inferências possíveis analisando os efeitos diretos e indiretos das variáveis explicativas sobre a variável básica.

A análise de trilha uma forma de regressão múltipla e, de acordo com Montgomery e Peck (2012), é necessário verificar a presença de multicolinearidade entre as variáveis. O grau de multicolinearidade é estabelecido com base no número de condição (NC), dado pela razão entre o maior e o menor autovalor não nulo da matriz $X'X$. Se $NC < 100$, a multicolinearidade é tida como fraca e não constituiu problema sério na análise. Se $100 \leq NC \leq 1000$, a multicolinearidade é considerada de moderada a forte, e se o $NC > 1000$ é indicativo de multicolinearidade severa.

Não sendo constatada multicolinearidade, os parâmetros do modelo que foram estabelecidos através do diagrama podem ser estimados pelo método dos mínimos quadrados ordinários (Montgomery e Peck, 2012). Esse método leva a solução da equação $(X'X)\beta = X'Y$, em que $X'X$ é a matriz de correlações entre as variáveis independentes do modelo de regressão, β é o vetor dos estimadores dos coeficientes de trilha e $X'Y$ é a matriz de correlações entre a variável dependente com cada variável independente do modelo de regressão.

Caso seja constatada a presença de multicolinearidade entre as variáveis independentes pode-se usar a regressão em crista, proposta por Hoerl e Kennard (1970), pois essa técnica controla de maneira satisfatória os efeitos adversos que a multicolinearidade ocasiona na estimação dos parâmetros.

Para realizar inferências com o modelo ajustado, alguns pressupostos básicos sobre os erros (normalidade, independência, homocedasticidade) devem ser atendidos. Dessa forma foram conduzidos os testes de: normalidade de Shapiro-Wilk, independência de Durbin-Watson e de não homocedasticidade de Breusch-Pagan. A detecção de existência de pontos influentes foi feita por análise gráfica através da distância de Cook. Esses métodos estão descritos em Montgomery e Peck (2012). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando funções disponíveis e/ou desenvolvidas no software R (R Core Team, 2019).

3. Resultados e Discussão

Inicialmente, foi conduzida uma análise exploratória dos dados para verificar a presença de pontos discrepantes e normalidade das variáveis. Através da análise do gráfico boxplot das variáveis em estudo (não mostrado aqui), verificou-se a inexistência de pontos discrepantes. Observou-se também que todas as variáveis atenderam a suposição de normalidade ($p > 0,05$). Atendida a suposição de normalidade e verificado a não existência de pontos discrepantes, foram realizadas as análises de correlação simples, correlação parcial e a análise de trilha.

Na Tabela 1 estão apresentados os valores das correlações entre as variáveis. Pode-se notar que todas as variáveis apresentaram correlação forte e positiva ($\geq 0,9392$) com a variável básica número de gemas viáveis, sendo peso fresco e comprimento de plântula as maiores correlações (0,9995 e 0,9686; respectivamente). Ainda, existem correlações fortes e significativas entre algumas variáveis explicativas, como entre comprimento de plântula e vigor da plântula (0,9951) e comprimento da plântula e peso fresco da plântula (0,9761).

Tabela 1. Correlações lineares simples de Pearson entre as cinco variáveis analisadas comprimento da plântula (CPL), peso seco da plântula (PSPL), vigor da plântula (VPL), número de gemas viáveis (NG) e peso fresco da plântula (PF).

	PSPL	VPL	NG	PF	CPL
PSPL	1				
VPL	0.8126**	1			
NG	0.9633**	0.9392**	1		
PF	0.9542**	0.9497**	0.9995**	1	
CPL	0.8664**	0.9951**	0.9686**	0.9761**	1

** (*valor-p* < 0,01). Fonte: Autores.

A Correlação parcial é a intermediária entre correlação simples e análise de trilha, ela remove o efeito de outras variáveis numa correlação entre duas variáveis de interesse (Cruz, Regazzi e Carneiro, 2012). Assim, utilizou-se o método da correlação parcial para testar e comprovar a importância que cada variável tem no relacionamento escolhido. Quando a correlação parcial é muito diferente da correlação simples, podemos dizer que não há relação de causa e efeito, foram obtidos os resultados apresentados na Tabela 2.

Os resultados do método da correlação parcial aplicado no modelo causal escolhido *a priori*, apresentados na Tabela 2, reforçam que todas as variáveis que compõem o primeiro modelo causal desempenham uma parte importante nessa relação.

O número de condições desse modelo foi NC=94, dessa forma, pode-se usar o método de mínimos quadrados ordinários, sem a necessidade de usar algum método alternativo, para contornar os efeitos da multicolinearidade.

Tabela 2. Resultado do método da correlação parcial para o modelo.

Cor. Parcial	$\Delta_{0,i} (i=1,2,3,4)$	Resultados
$r_{01.234}$	0,9761	$> 2\sigma$
$r_{02.134}$	0,9986	$> 2\sigma$
$r_{03.124}$	0,9884	$> 2\sigma$
$r_{04.123}$	0,9987	$> 2\sigma$

$\sigma = 0,325$. Fonte: Autores.

Através da análise dos resíduos do modelo ajustado verificou-se a independência ($p > 0,01$); a normalidade ($p > 0,01$), a não homocedasticidade ($p > 0,01$) e também não mostrou a existência de pontos influentes.

Os coeficientes de trilha, efeitos diretos e indiretos, das variáveis explicativas sobre o número de gemas encontram-se na Tabela 3. A Tabela 3 mostra que o coeficiente de determinação ($R^2_{0.1234}$) das variáveis comprimento, peso fresco, peso seco e vigor da plântula explicaram 98,4% da variação do número de gemas viáveis.

Levando-se em consideração o que se observa a campo, seria esperado que a variável altura tivesse grande contribuição. Mas, conforme o que foi encontrado, no processo de micropropagação deve-se ter muito cuidado com a análise dessa variável, pois ela não garantirá boa disponibilidade de segmentos nodais. Uma vez que não apresentou boa estimativa para efeito direto em número de gemas viáveis. Isso pode ter ocorrido, devido a um intervalo grande entre os nós dos segmentos. Portanto, em se tratando desta variável, alguns fatores devem ser levados em consideração: não sendo desejável o estiolamento, o que causaria uma distância muito grande entre os segmentos e conseqüentemente menor número de gemas; assim como plântulas com comprimento muito pequeno, pois um grande número de gemas em pequena extensão de segmento formariam aglomerados, que seriam de difícil propagação.

Tabela 3. Estimativas dos efeitos diretos e indiretos das variáveis consideradas como explicativas sobre a variável básica NG: número de gemas, CPL: comprimento da plântula, PSPL: peso seco da plântula, VPL: vigor da plântula e PA: peso fresco da plântula.

Variáveis primárias	Vias de associação	Estimador	Estimativa
PSPL	Efeito direto sobre NG	\hat{p}_{01}	0,237
	Efeito indireto sobre VPL	$\hat{p}_{02}\hat{r}_{12}$	0,361
	Efeito indireto sobre CPL	$\hat{p}_{02}\hat{r}_{13}$	0,108
	Efeito indireto sobre PF	$\hat{p}_{02}\hat{r}_{14}$	0,276
	Total	\hat{r}_{01}	0,995
VPL	Efeito direto sobre NG	\hat{p}_{02}	0,368
	Efeito indireto sobre PSPL	$\hat{p}_{01}\hat{r}_{12}$	0,232
	Efeito indireto sobre CPL	$\hat{p}_{03}\hat{r}_{23}$	0,103
	Efeito indireto sobre PF	$\hat{p}_{04}\hat{r}_{24}$	0,274
	Total	\hat{r}_{02}	0,996
CPL	Efeito direto sobre NG	\hat{p}_{03}	0,110
	Efeito indireto sobre PSPL	$\hat{p}_{01}\hat{r}_{13}$	0,234
	Efeito indireto sobre VPL	$\hat{p}_{02}\hat{r}_{23}$	0,344
	Efeito indireto sobre PF	$\hat{p}_{02}\hat{r}_{34}$	0,270
	Total	\hat{r}_{03}	0,964
PF	Efeito direto sobre NG	\hat{p}_{04}	0,277
	Efeito indireto sobre PSPL	$\hat{p}_{01}\hat{r}_{14}$	0,237
	Efeito indireto sobre VPL	$\hat{p}_{02}\hat{r}_{24}$	0,364
	Efeito indireto sobre CPL	$\hat{p}_{02}\hat{r}_{34}$	0,107
	Total	\hat{r}_{04}	0,998
R^2			0,984
Efeito Residual (\hat{p}_ϵ)			0,125

Fonte: Autores.

Esse comportamento foi verificado em Verdial et al. (2000), os autores trabalharam com maracuja amarelo em casa de vegetação sob diferentes substratos e recipientes e verificaram que o tratamento que apresentou maior altura da planta não pode ser considerado o melhor tratamento pois promoveu o estiolamento das plantas.

Em ambiente controlado, as plantas conduzidas, apresentam atributos fenotípicos distintos das conduzidas em ambiente natural, evidenciando a influência do ambiente de plantio no desenvolvimento de mudas (Olivoto et al., 2015).

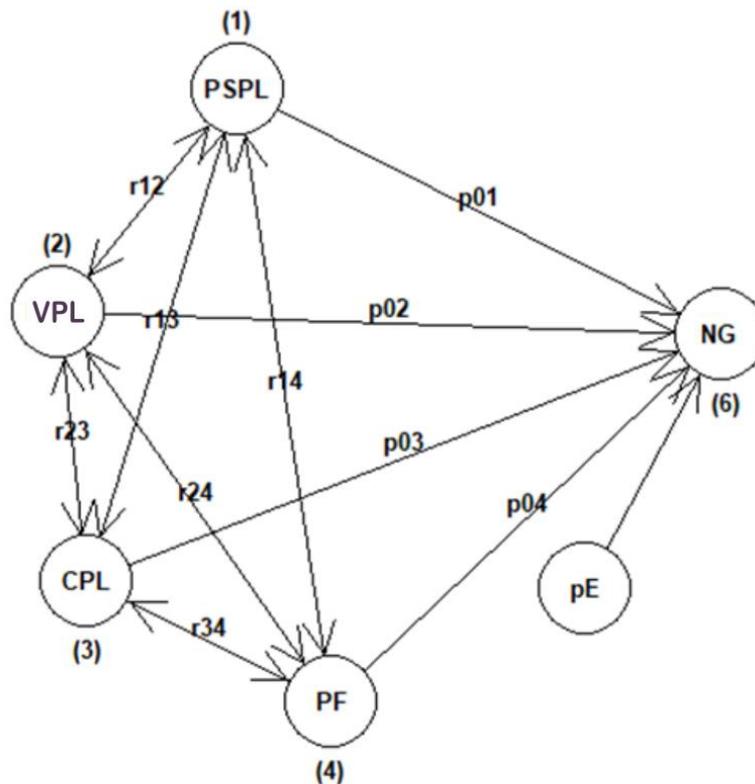
O vigor da plântula foi a variável mais influente, com efeito direto de 0,368; pode-se dizer que é a principal variável determinante na variação do número de gemas (Tabela 3).

Foram observados efeitos indiretos maiores que o efeito residual entre as variáveis, por exemplo, o peso seco da plântula e o número de explantes viáveis (0,361), e o comprimento de plântula e o número de explantes viáveis (0,344). Nesses casos, os efeitos indiretos merecem atenção, uma vez que são responsáveis pela falta ou baixa correlação (Vencovsky e Barriga, 1992). Esses resultados reforçam uma relação de causa e efeito.

Segundo Hafle et al. (2009), a redução do número de gemas floríferas provoca a redução dos ramos terciários (produtivos) e, conseqüentemente, a floração e a produção por planta. A formação e o desenvolvimento de gemas florais proporcionam vegetação e perfilhamento das plantas (Malavolta, Vitti e Oliveira, 1997). Faria et al. (2017) obtiveram respostas distintas para os mesmos tratamentos para as variáveis tamanho do explante e número de gemas, sugerindo que não exista uma relação entre elas, corroborando com o encontrado neste trabalho, ainda segundo os autores o número de folhas e número de gemas obtiveram respostas próximas sugerindo existir uma relação entre essas variáveis.

A análise de trilha foi realizada considerando-se como hipótese um único diagrama causal conforme apresentado na Figura 1. Assim, considerou-se o número de gemas (NG), como a variável principal, e como variáveis explicativas: comprimento da plântula (CPL), vigor da plântula (VPL), peso seco da plântula (PSPL) e peso fresco da plântula (PF).

Figura 1. Diagrama causal contendo a variável básica: número de gemas (NG) e as variáveis explicativas: comprimento da plântula (CPL), peso seco da plântula (PSPL), vigor da plântula (VPL) e peso fresco da plântula (PF). As setas unidirecionais indicam os efeitos diretos de cada variável explicativa (independente) sobre uma variável básica (dependente), enquanto as bidirecionais representam a interdependência das variáveis explicativas.



Fonte: Autores.

4. Conclusão

A multicolinearidade, fator que poderia afetar os parâmetros que fornecem os coeficientes de trilha, não foi observada neste estudo. Dessa forma, é possível concluir que o vigor da plântula durante o processo de conservação *in vitro* é a variável mais correlacionada e também a que apresenta o maior efeito direto sobre o número de gemas viáveis para propagação de maracujazeiro.

Esse resultado poderá auxiliar futuros estudos com cultivo *in vitro* de maracujazeiro, à medida que destaca a variável que merece maior atenção no processo de conservação de

germoplasma *in vitro* para posterior propagação. Essa informação será valiosa para formação de bancos de germoplasma, bem como para programas de melhoramento genético da cultura.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG). Os autores também agradecem à Embrapa Mandioca e Fruticultura, por disponibilizar toda a estrutura necessária para gerar os dados experimentais utilizados.

Referências

Agriannual, F. (2017). Anuário da Agricultura brasileira. *São Paulo: Instituto FNP Consultoria & Comércio.*

Cruz, C. D., Regazzi, A. J., & Carneiro, P. C. S. (2012). Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético (volume 4.) *Viçosa, Editora UFV.*

Faria, G. A., Felizardo, L. M., Ferreira, A. F. A., Rocha, P. S., Suzuki, A. N., Souza, A. S., Junghans, T. G., Costa, M. A. P. C., Peixoto, A. P. B., Morais, A. R., Lopes, B. G. & Oliveira, T. A. (2017) Concentrations of Silver Nitrate in the *In Vitro* Development and Conservation of *Passiflora gibertii* N. E. Brown. *American Journal of Plant Sciences*, 8, 2944-2955.

Fisher, R. A. (1932). Statistical Methods for research workers. *London: Oliver and Boyd*, (4th ed.).

Goldsmith, J. R. (1977). Paths of association in epidemiological analysis: application of the confounding factor, since no statistical test or procedure to health effects of environmental exposures. *International Journal of Epidemiology, Oxford*, 6(4), 391-399.

Hafle, O. M., Ramos, J. D., Lima, L. C. O., Ferreira, E. A., & Melo, P. C. (2009). Produtividade e qualidade de frutos do maracujazeiro-amarelo submetido à poda de ramos produtivos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 31(3), 763-770.

Hoerl, A. E., & Kennard, R. W. (1970). Ridge regression: applications to nonorthogonal problems. *Technometrics*, 12(1), 69-82.

Malavolta, E., Vitti, G. C., & Oliveira, S. A. (1997). *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*.

Montgomery, D. C., & Peck, E. A. (2012). *Introduction to linear regression analysis* (Vol. 821). John Wiley & Sons.

Neves, L. G., Bruckner, C. H., Cruz, C. D., & Barelli, M. A. A. (2010). Avaliação da repetibilidade no melhoramento de famílias de maracujazeiro. *Revista Ceres*, 57(4), 480-485.

Olivoto, T., Souza V. D., Carvalho, I. R. C., Nardino, M., & Follmann, D. N. (2015). Análise de Trilha para Caracteres Relacionados ao Crescimento de Mudanças de Pepineiro. *Enciclopédia Biosfera*, 21(11), 69-80.

Peixoto, A. P. B., Faria, G. A., & Morais, A. R. (2011). Modelos de regressão com platô na estimativa do tamanho de parcelas em experimento de conservação in vitro de maracujazeiro. *Ciência Rural*, 41(11), 1907-1913.

R Core Team. (2019). *R: a language and environment for statistical computing*. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Recuperado de <http://www.r-project.org>.

Sacoman, N. N., Viana, A. P., Carvalho, V. S., Santos, E. A., & Rodrigues, R. (2018). Resistance to Cowpea aphid-borne mosaic virus in in vitro germinated genotypes of *Passiflora setacea*. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40(1).

Santos, V. A. dos, Ramos, J. D., Laredo, R. R., Silva, F. O. R., Chagas, E. A., & Pasqual, M. (2017). Produção e qualidade de frutos de maracujazeiro-amarelo provenientes do cultivo com mudas em diferentes idades. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 16(1), 33-40.

Silva, R. M. D., Ambrósio, M. M. D. Q., Aguiar, A. V. M. D., Faleiro, F. G., Cardoso, A. M. S., & Mendonça, V. (2017). Reação de cultivares de maracujazeiro em áreas com fusariose. *Summa Phytopathologica*, 43(2), 98-102.

Souza, T. V. (2013). *Aspectos estatísticos da análise de trilha (path analysis) aplicada em experimentos agrícolas*. Universidade Federal de Lavras (Mestrado em Estatística e Experimentação Agropecuária).

Souza, T. V., Ribeiro, C. M., Scalon, J. D., & Guedes, F. L. (2017). Relações entre componentes de rendimento e características morfológicas de milho. *Magistra*, 26(4), 493-504.

Vasconcelos, A. G. G., Almeida, M. V. A., & Nobre, F. F. (1998). The path analysis approach for the multivariate analysis of infant mortality data. *Annals of Epidemiology*, 8(4), 262-271.

Wright, S. (1921). Correlation and causation. *Journal of Agricultural Research*, 20(7), 557-585.

Vencovsky, R., & Barriga, P. (1992). Genética Biométrica no fitomelhoramento. *Revista Brasileira de Genética*, 496p.

Verdial, M. F., Lima, M. S. D., Tessarioli Neto, J., Dias, C. T. D. S., & Barbano, M. T. (2000). Métodos de formação de mudas de maracujazeiro amarelo. *Scientia Agricola*, 57(4), 795-798.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Tadeu Vilela de Souza – 30%

Glaucia Amorim Faria – 20%

Silvio de Castro Silveira – 15%

Beatriz Garcia Lopes – 15%

João Domingos Scalon – 10%

Joel Augusto Muniz – 10%