

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE
PLANTAS

BRUNA MEZZALIRA DA SILVA

**Diversidade genética em populações de cajazeira (*Spondias
mombin* L.) com ocorrência natural na Amazônia Mato-grossense**

ALTA FLORESTA
MATO GROSSO – BRASIL
DEZEMBRO - 2015

BRUNA MEZZALIRA DA SILVA

Diversidade genética em populações de cajazeira (*Spondias mombin* L.) com ocorrência natural na Amazônia Mato-grossense

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a. Dra. Ana Aparecida Bandini Rossi

Co-orientador: Prof. Dr. Sergio Alessandro Machado Souza

ALTA FLORESTA
MATO GROSSO – BRASIL
DEZEMBRO – 2015

Silva, Bruna Mezzalira da Silva.

Diversidade genética em populações de cajazeira (*Spondias mombin* L.) com ocorrência natural na Amazônia Mato-grossense./Bruna Mezzalira da Silva. – Alta Floresta/MT: UNEMAT, 2015. 71 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado de Mato Grosso. Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, 2015.

Orientadora: Ana Aparecida Bandine Rossi

Co-orientador: Sergio Alessandro Machado Souza

1. Cajá. 2. Frutíferas amazônicas. 3. Recursos vegetais. I. Título.

CDU: 634.442(817.2)

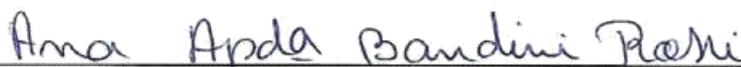
DIVERSIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE CAJAZEIRÁ (*Spondias mombin* L.) COM OCORRÊNCIA NATURAL NA AMAZÔNIA MATO-GROSSENSE

BRUNA MEZZALIRA DA SILVA

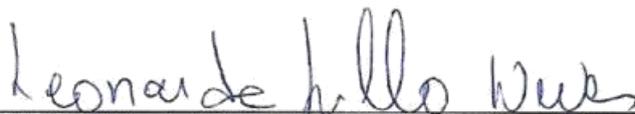
Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de Mestre.

Aprovado em 21 de dezembro de 2015.

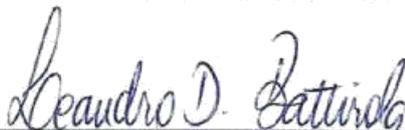
Comissão Examinadora:



Prof^a. Ana Aparecida Bandini Rossi (D.Sc., Genética e Melhoramento) –
Universidade do Estado de Mato Grosso (Orientadora)



Prof^a. Leonarda Grillo Neves (D.Sc., Genética e Melhoramento) – Universidade do
Estado de Mato Grosso



Prof. Leandro Dênis Battirola (D.Sc., Ciências Biológicas – Entomologia) –
Universidade Federal de Mato Grosso

“Se não houver frutos, valeu a beleza das flores; se não houver flores, valeu a sombra das folhas; se não houver folhas, valeu a intenção da semente.”

Henfil

Aos meus pais, Valdomiro e Tarcimara, à
minhas irmãs, Bárbara e Giovanna pelo apoio
incondicional.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À DEUS, pela minha vida, por sempre estar comigo me mostrando o caminho a seguir, dando-me sempre força e fé.

À Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT) e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas pela oportunidade concedida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pela concessão da bolsa de estudos.

À minha orientadora, professora Dr. Ana Aparecida Bandini Rossi que muito acrescentou na minha formação acadêmica nesses cinco anos de trabalhos em conjunto, quero expressar o meu reconhecimento e admiração pela sua competência profissional e minha gratidão pela sua amizade, por ser uma profissional extremamente qualificada e pela forma humana que conduziu minha orientação.

Aos meus pais, que estiveram sempre ao meu lado me apoiando e incentivando e pelos valores e educação oferecidos.

À minhas irmãs caminhei e caminho sempre pensando em vocês.

Aos meus familiares, primos, tios e avós, pelo carinho, pelas orações e o constante incentivo na minha caminhada. Obrigada por torcerem pelas minhas vitórias mesmo distantes.

Ao meu namorado, pela sua paciência, compressão e carinho, apoiando e colaborando no meu trabalho.

Aos colegas de laboratório não apenas pela colaboração durante a execução da pesquisa, mas pelos bons momentos de risadas e confraternização.

Aos funcionários do *Campus* que por muitas vezes participaram ativamente da minha pesquisa.

A todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente, pela amizade e ajuda!

BIOGRAFIA

Bruna Mezzalira da Silva, filha de Valdomiro Bueno da Silva e de Tarcimara Mezzalira da Silva, irmã de Bárbara Mezzalira da Silva e Giovanna Mezzalira da Silva, nasceu em Marcelândia - Mato Grosso no dia 01 de julho de 1992. Em 2008 terminou o terceiro ano no Ensino médio na Escola Estadual Pedro Bianchini. No ano de 2009 ingressou no curso de Licenciatura plena em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado de Mato Grosso, *Campus* de Alta Floresta, o qual concluiu em 2013 sob a orientação da Prof^a. D.Sc. Ana Aparecida Bandini Rossi. Em 2014, iniciou o Mestrado no Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas – UNEMAT – *Campus* de Alta Floresta, o qual concluiu em 2015, também com a orientação da Prof^a. D.Sc. Ana Aparecida Bandini Rossi.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	01
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	03
2.1. O gênero <i>Spondias</i>	03
2.2. Aspectos gerais <i>Spondias mombin</i>	03
2.3. Marcadores Microssatélites (ISSR).....	05
2.4. Variabilidade genética em populações.....	06
2.5. Diversidade genética.....	06
2.6. Caracterização morfológica.....	07
2.7. Melhoramento da cajazeira.....	08
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	09
4. CAPÍTULOS.....	13
4.1. CAPÍTULO 1 – DIVERSIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES NATURAIS DE <i>Spondias mombin</i> L. POR MEIO DE MARCADORES MOLECULARES.....	13
RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	14
INTRODUÇÃO.....	15
MATERIAL E MÉTODOS.....	17
Área de Estudo e Amostragem do material vegetal.....	17
Coleta do Material.....	18
Extração e Quantificação de DNA.....	18
Amplificação e genotipagem de locos ISSR.....	19
Análise estatística.....	20
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
CONCLUSÕES.....	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32
4.2. CAPÍTULO 2 – DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE GENÓTIPOS DE <i>Spondias mombin</i> L. POR MEIO DE CARACTERES MORFOLÓGICOS.....	37
RESUMO.....	37
ABSTRACT.....	38
INTRODUÇÃO.....	39
MATERIAL E MÉTODOS.....	41

Área de estudo.....	41
Material vegetal.....	41
Características morfológicas do fruto.....	41
Características morfológicas da semente.....	42
Análise estatística.....	43
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
CONCLUSÕES.....	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
5. CONCLUSÕES GERAIS.....	60

RESUMO

SILVA, BRUNA MEZZALIRA DA; M.Sc.; Universidade do Estado de Mato Grosso; Fevereiro de 2016. Diversidade genética em populações de cajazeira (*Spondias mombin* L.) com ocorrência natural na Amazônia Mato-grossense. Orientadora: Ana Aparecida Bandini Rossi. Conselheiro: Sergio Alessandro Machado Souza.

A flora brasileira é rica em frutas silvestres comestíveis, as quais constituem um patrimônio genético e cultural de inestimável valor. Dentre as espécies de fruteiras nativas da região norte e nordeste do Brasil, destaca-se a cajazeira (*Spondias mombin* L.) que é uma espécie pertencente à família Anacardiaceae e ao gênero *Spondias*, um dos mais importantes dentro da família. O aumento da demanda por frutos da cajazeira vem despertando o interesse para o cultivo da espécie, porém, até o momento, toda produção se baseia no extrativismo e alguns cultivos domésticos. A avaliação e quantificação da diversidade genética podem auxiliar no desenvolvimento de programas de conservação e melhoramento genético. Neste contexto, este trabalho objetivou a caracterização molecular e morfológica de *S. mombin*, com ocorrência em populações naturais na Amazônia Mato-grossense. Para estimar a diversidade genética com marcador molecular, foram amostrados 126 indivíduos distribuídos no Norte do estado de Mato Grosso entre os municípios de Alta Floresta (AFL) 42, Marcelândia (MAR) 41 e Nova Bandeirantes (NBA) 43, dos quais foram coletadas folhas para extração de DNA genômico. As amplificações foram realizadas via PCR com o emprego de 14 *primers* ISSR. Foi avaliada também a divergência genética em 60 genótipos, sendo 20 genótipos localizados em cada população (AFL, MAR e NBA) por meio de 12 características morfológicas, sendo oito de frutos e quatro de sementes. As características foram mensuradas em 600 frutos e sementes. Os 14 *primers* amplificaram 99 fragmentos, dos 14 *primers* utilizados, treze apresentaram PIC acima de 0,25, sendo, portanto recomendados para análise da diversidade em cajazeira. A maior parte da variabilidade genética foi intrapopulacional (77,38%). As populações mais similares geneticamente são as mais próximas geograficamente, sugerindo que a estrutura genética em *S. mombin* é determinada pela distância geográfica. O dendrograma gerado pelo método UPGMA possibilitou a formação de nove grupos distintos de acordo com a localidade em que os genótipos se encontram. No agrupamento do “Structure” houve a formação de três grupos, demonstrando que os indivíduos ficaram alocados nas suas devidas populações. Os resultados das análises baseadas nas características morfológicas de frutos e sementes também revelaram que há divergência genética entre os genótipos analisados. As características que mais contribuíram para a discriminação dos genótipos foram a largura do fruto, peso da polpa, pH, comprimento da semente e espessura da semente. Sendo, portanto, os caracteres mais responsivos para a seleção de genótipos de *S. mombin*. As menores contribuições para a diversidade foram obtidas dos caracteres: peso do fruto, largura da semente, espessura do fruto, volume do fruto, comprimento do fruto, peso da semente e teor de sólidos solúveis. Com base nos resultados obtidos neste estudo, verifica-se que as populações naturais de *S. mombin* são importantes para subsidiar ações futuras de programas de melhoramento e de conservação da espécie.

Palavras chave: Cajá, Frutíferas Amazônicas, Recursos vegetais.

ABSTRACT

SILVA, BRUNA MEZZALIDA DA, M.Sc., Universidade do Estado de Mato Grosso, February, 2016. Genetic diversity in populations of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) with natural occurrence in the Brazilian Amazon. Adviser: Ana Aparecida Bandini Rossi. Counselor: Sergio Alessandro Machado Souza.

Brazilian flora is rich in edible wild fruits which constitute a genetic and cultural patrimony of inestimable value. Among the native fruit trees species from northern and northeastern Brazil, there is the yellow mombin (*Spondias mombin* L.), which is a species from the Anacardiaceae family and genus *Spondias*, one of the most important within the family. The increase in the demand for the yellow mombin fruits has raised the interest for the species cultivation. However, so far, all the production is based on the extraction and on some domestic crops. The genetic evaluation and quantification diversity can help in conservation programs and aid breeding programs development. In this context, this study aimed the molecular and morphological *S. mombin* characterization occurring in natural populations in Mato Grosso state Amazon. To estimate the genetic diversity with a molecular marker, 126 individuals were sampled, distributed in the northern state of Mato Grosso, among the cities of Alta Floresta (AFL) 42, Marcelândia (MAR) 41 and Nova Bandeirantes (NBA) 43, whose leaves were collected for genomic DNA extraction. The amplifications were performed via PCR with the use of 14 ISSR primers. We also evaluated the genetic diversity in 60 genotypes, being 20 genotypes located in each population (AFL, NBA and MAR) through 12 morphological characteristics, being eight from fruits and four from seeds. The characteristics were measured on 600 fruits and seeds. The 14 primers amplify 99 fragments. From the 14 primers, thirteen presented PIC above 0.25, being recommended for yellow mombin diversity analysis. Most of the genetic variability was intrapopulational (77.38%). The most genetically similar populations are the closest geographically, suggesting that the genetic *S. mombin* structure is determined by the geographical distance. The dendrogram generated by the UPGMA method allowed the formation of nine distinct groups according to the locality in which the genotypes are. In the "Structure" grouping, there was a formation of three groups, demonstrating that individuals were allocated in their appropriate populations. The analyze results based on morphological fruit and seed characteristics also revealed that there is a genetic divergence between the analyzed genotypes. The characteristics that most contributed to the genotypes discrimination were: fruit width, pulp weight, pH, seed length and seed thickness. Therefore, they are the most responsive characters for the *S. mombin* genotypes selection. Smaller contributions to the diversity were obtained from the characters: fruit weight, seed width, fruit thickness, fruit volume, fruit length, seed weight and soluble solids content. Based on the results obtained in this study, important natural *S. mombin* populations were found to support future actions of breeding and conservation species programs.

Keywords: Yellow Mombin, Amazon Fruit trees, Plant Resources.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A grande extensão territorial do Brasil é composta por seis grandes biomas: Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Caatinga, Pantanal e Campos Sulinos (Coutinho, 2006). A floresta Amazônica ocupa cerca de 40% do território nacional (Souza, 1997), sendo um dos biomas que abrigam grande variedade de ambientes e um enorme potencial de recursos naturais (Raposo, 2007).

A flora brasileira é rica em frutas silvestres comestíveis, as quais constituem um patrimônio genético e cultural de inestimável valor (Mielke et al., 1990). O bioma Amazônico além de ser o centro de máxima diversidade, destaca-se pela riqueza de espécies com potencial para uso na agricultura, melhoramento genético e domesticação, incluindo espécies florestais (Silva, 2007).

Dentre as espécies de fruteiras nativas da região Norte e Nordeste do Brasil, destaca-se a cajazeira (*Spondias mombin* L.) que é uma espécie pertencente à família Anacardiaceae e ao gênero *Spondias*, um dos mais importantes dentro da família (Justiniano et al., 2001). São inúmeras as possibilidades de processamento agroindustrial do fruto de *S. mombin*, que apresenta sabor exótico, com excelente qualidade e valor comercial na forma de sucos, polpas, sorvetes, picolés, néctares e geleias (Sacramento, 2000). O aumento da demanda por frutos da cajazeira vem despertando o interesse para o cultivo da espécie (Soares et al., 2006), porém, até o momento, toda produção se baseia no extrativismo e alguns cultivos domésticos (Fraife Filho et al., 2015).

A exploração inadequada dos recursos naturais vem provocando a extinção de um grande número de espécies nos diferentes biomas do planeta. Entre as várias causas dessas extinções, as mais comuns são a perda e a fragmentação de habitats. Em virtude de tal realidade, existe uma necessidade urgente de estudos genéticos em nível populacional das espécies que compõem estes biomas, pois pouco se sabe sobre as espécies ocorrentes, para que então possam ser estabelecidas estratégias de manejo e conservação genética (Botrel e Carvalho, 2004).

Estudos de genética de populações naturais têm como objetivo avaliar e quantificar a distribuição da variabilidade genética no tempo e no espaço. Esse conhecimento permite o entendimento de como a seleção está atuando em função

da adaptabilidade, sendo que uma variabilidade genética maior aumenta a chance de perpetuação da espécie (Estopa et al., 2006).

A estimativa e quantificação da diversidade genética podem auxiliar em programas de conservação e no desenvolvimento de programas de melhoramento genético. O advento das técnicas de biologia molecular envolvendo PCR (reações de polimerase em cadeia) proporcionou o estudo direto da diversidade genética intra e interpoblacional em vegetais (Ruas, 2006). O uso de marcadores moleculares, ainda possibilita a avaliação dos materiais sem a influência ambiental. Desta forma, os marcadores moleculares costumam ser utilizados em várias pesquisas envolvendo seleção de materiais e análise de variabilidade em Bancos de Germoplasma (Pereira e Pereira, 2006).

Os marcadores moleculares ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) têm sido largamente utilizados em estudos de filogenia, diversidade genética e seleção assistida por marcadores (Benzaquem et al., 2009).

A expansão do cultivo de cajazeiras em escalas ou modelos comerciais requer o uso de material propagativo proveniente de genótipos com elevado potencial produtivo e caracteres desejáveis (Bosco et al., 2000). Com isso, técnicas de análises multivariadas constituem-se em ferramentas de grande potencial para o melhorista por considerar simultaneamente um conjunto de características (Cruz, 2001). Segundo Fonseca e Ribeiro (1992), a caracterização morfológica, juntamente à molecular, propicia um melhor conhecimento dos recursos genéticos e auxilia na seleção de populações ou plantas com características desejáveis para o cultivo.

Neste contexto, este trabalho objetiva a caracterização molecular e morfológica de *S. mombin*, com ocorrência em populações naturais na Amazônia Mato-grossense.

Sendo assim, esta dissertação está estruturada em dois capítulos. O capítulo 1 teve o objetivo de avaliar a diversidade genética entre e dentro de populações de *Spondias mombin* com ocorrência natural no norte do Estado de Mato Grosso por meio de marcadores ISSR. O capítulo 2 teve como objetivo avaliar a divergência genética entre genótipos de *S. mombin* e quantificar a contribuição relativa de 12 características morfológicas de frutos e sementes para a obtenção de dados que sirvam de subsídio a futuras pesquisas referentes à conservação e domesticação da espécie.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O gênero *Spondias*

A família Anacardiaceae abrange 73 gêneros e aproximadamente 850 espécies (Donadio e Ferreira, 2015). Destaca-se por agrupar diversas espécies frutíferas importantes do gênero *Spondias*, que são exploradas economicamente em várias áreas tropicais e subtropicais do mundo (Souza, 2005).

Dentre as espécies do gênero *Spondias*, destacam-se a cajazeira (*S. mombin* L.), o umbuzeiro (*S. tuberosa* Arr. Câm.), a cajaraneira do sertão (*Spondias* sp.), a sirigueleira (*S. purpurea* L.), os híbridos caja-manga (*S. cytherea* Sonn) e a umbu-cajazeira (*Spondias* spp.). Essas espécies são exploradas extrativamente ou cultivadas em pomares domésticos e não fazem parte das estatísticas oficiais mas, mesmo assim, têm grande importância socioeconômica para as regiões Norte e Nordeste do Brasil. Seus frutos são consumidos *in natura* ou processados como polpas, sucos, geleias, néctares e sorvetes de excelente qualidade e alto valor comercial, o que torna viável a exploração agroindustrial dessas fruteiras (Souza, 2005).

2.2. Aspectos gerais *Spondias mombin*

A cajazeira é uma árvore frutífera tropical lenhosa (Figura 1 A), ainda em domesticação. Tem porte médio a elevado que pode atingir entre 20 a 30 metros de altura, tronco com diâmetro entre 0,5 a 2,0 metros, casca acinzentada, rugosa fendida e muito grossa (Figura 1 B), copa ampla e frondosa, com formato capitata corimbiforme variando entre 8 a 24 m de diâmetro. As folhas são compostas, alternas, com quatro a doze pares de folíolos (Figura 1 C). As flores são dispostas em inflorescências do tipo panículas terminais piramidais, com numerosas flores pequenas de coloração branca (Figura 1 D). O fruto é do tipo drupa e apresenta entre 3 a 6 cm de comprimento, formato oval, cor variando do amarelo ao alaranjado, casca lisa (Figura 1 E e F), polpa pouco espessa, de cor também variando do amarelo ao alaranjado e sabor agridoce (Santana, 2010).

Apresenta-se como caducifólia em regiões que exibem clima com estação seca (Villachica, 1996), porém em outras regiões comporta-se como perenifólia ou semidecídua (Lorenzi, 1992).



Figura 1. Árvore de *Spondias mombin* (A); Detalhe do tronco (B); Detalhe das folhas e inflorescência (C); Detalhe das Flores (D) e Detalhe dos Frutos (E e F).

Na cajazeira é relatada a presença de fenômeno que favorece a fecundação cruzada, de tal forma que é classificada como alógama pela ocorrência de dicogamia do tipo protândrica (Sacramento e Souza, 2000) e de auto-incompatibilidade (Souza, 2000). A polinização da cajazeira é anemófila baseada em características anatômicas das flores tendo em vista que as flores são desprovidas de cores vistosas e atraentes, nectários e todo o tipo de atrativos a possíveis polinizadores (Lozano, 1986). Outro fato importante é a dispersão do pólen em *Spondias mombin* que pode chegar a mais de 300 m de distância e sofre influência direta do espaçamento predominante entre plantas, de forma que, em populações com predominância de espaçamentos maiores a dispersão do pólen pode alcançar algumas centenas de metros, enquanto que em cultivos mais adensados a maioria dos cruzamentos ocorre entre os vizinhos mais próximos (Stacey et al., 1996).

Prance e Silva (1975) identificam a cajazeira como procedente da América do Sul e Antilhas, encontrando-se dispersa desde o Sul do México até o Brasil. No Brasil, é encontrada principalmente nos Estados do Norte e Nordeste, onde seus

frutos recebem diferentes denominações, sendo conhecidos como: cajá, cajá verdadeiro, cajá-mirim ou taperebá. Estes são utilizados no preparo de polpas, sucos, picolés, sorvetes, néctares e geléias. A madeira é bastante utilizada em serviços de marcenaria e partes da planta, casca e folha, são bastante utilizadas com finalidades medicinais (Sacramento, 2000).

Maciel e Guerra (2008) consideraram o cajá como rica fonte de fitoquímicos, muitos dos quais com importância fisiológica, a exemplo das antocianinas, carotenoides, fenólicos, flavonoides e ácido ascórbico. Esses compostos encontram-se frequentemente em frutos e vêm sendo motivo de investigações científicas por apresentarem propriedades antioxidantes. Os frutos também são fontes das vitaminas A, B1, B2, C e niacina (Sacramento e Souza, 2000).

O aumento da demanda vem despertando o interesse pelo seu cultivo, porém o incipiente acervo de informações e conhecimentos existentes impede a instalação de pomares comerciais (Souza, 1998). A expansão do cultivo da cajazeira, em escala comercial, depende do uso de material propagativo com elevado potencial produtivo e com características qualitativas desejáveis (Bosco et al., 2000).

2.3. Marcadores Microssatélites (ISSR)

Os marcadores moleculares muito têm contribuído para a caracterização de germoplasma, já que são capazes de localizar diferenças significativas em nível de DNA. Com os marcadores moleculares, a caracterização pode ser realizada em uma maior velocidade, qualidade e em larga escala (Varshney et al., 2005). Esses podem estimar a alteração na frequência alélica, a perda ou fixação de alelos e a variabilidade genética da população.

Marcadores ISSR (*inter-simple sequence repeat*) são amplamente utilizados em estudos de diversidade e variabilidade genética por não necessitarem de informação prévia da sequência de DNA, ter baixos custos de desenvolvimento e os procedimentos laboratoriais podem ser transferidos para qualquer espécie de planta (Barth et al., 2002), são também fáceis de trabalhar, geram maior número de fragmentos polimórficos e constituem uma técnica menos onerosa (Brandão, 2008). Os *primers* de ISSRs são sequências de microssatélite, ancoradas ou não na extremidade 5' ou 3' (Gupta et al., 1994), amplificam a região entre os dois sítios de

ligação – *Indels*, perda ou ganho de sítios de ligação dentro da região amplificada são detectados como bandas polimórficas (Yang et al., 1996). Os ISSR comportam-se como marcadores dominantes e seguem o padrão de herança mendeliana simples (Gupta et al.1994).

Esta técnica tem demonstrado ser uma poderosa ferramenta para a investigação da variação genética dentro de espécies (Wolfe e Liston, 1998), sendo úteis em estudos de genética de populações, pois, suas sequências-alvo são abundantes ao longo do genoma de eucariontes e evoluem rapidamente (Brandão, 2008).

2.4. Variabilidade genética em populações

A compreensão dos padrões de variabilidade intrapopulacional e da distribuição da diversidade genética entre as populações de espécies florestais é de fundamental importância para a definição de estratégias de conservação e uso sustentável desses recursos (Primack e Rodrigues, 2001), e assim evitar perdas adicionais de diversidade genética em populações que são ameaçadas pelas atividades antrópicas (Rocha e Lobo 1998).

A estrutura genética de uma espécie pode ser definida pela distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações. Esta estrutura resulta da combinação entre mutação, migração, seleção e deriva genética, as quais definem a distribuição da variabilidade genética nas populações. Em populações naturais, a distribuição da variabilidade genética é influenciada pelo modo de reprodução, sistema de acasalamento, tamanho da população, distribuição geográfica e fluxo gênico (Hamrick, 1982), além de ser estruturada no tempo e no espaço.

As informações sobre a variabilidade genética em populações naturais são fundamentais para o progresso de duas áreas de grande interesse atual: especiação em florestas e conservação de recursos genéticos (Buckley et al., 1988).

2.5. Diversidade genética

Os estudos com espécies arbóreas nativas iniciaram-se principalmente a partir do final da década de 1980, quando alguns centros de pesquisa passaram a dar atenção à conservação dos recursos genéticos (Freitas et al., 2005). A avaliação

da diversidade genética é considerada vital para a formulação de estratégias de conservação para espécies arbóreas nativas (Sebastian et al., 2010).

Espécies que apresentam valores baixos de diversidade genética podem ter reduzida a sua capacidade de sobreviver a doenças e não se adaptarem a mudanças ambientais. Assim, a diversidade genética pode ser considerada de fundamental importância para a sustentabilidade e estabilidade dos ecossistemas (Rajora e Pluhar, 2003).

O processo de melhoramento genético é altamente dependente da amplitude da base genética disponível, que por sua vez é influenciada pelo acervo de recursos úteis disponíveis na forma de materiais coletados e caracterizados, mantidos nos bancos de germoplasma, que são insumos importantes para o desenvolvimento do melhoramento genético da espécie e também de novas cultivares. A capacidade de acessar esses genótipos portadores de variabilidade é o fator fundamental para o sucesso de qualquer programa de melhoramento genético vegetal (Queiroz e Lopes, 2007).

A caracterização molecular da diversidade genética no germoplasma pode fornecer dados úteis para auxiliar o melhorista na seleção de genitores de populações básicas ao estabelecer programas de melhoramento. Tais populações são estabelecidas pelo cruzamento de materiais superiores, objetivando-se frequentemente, a maximização da distância genética com a finalidade de recombinar genes ou complexos gênicos em novas combinações gênicas favoráveis (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

2.6. Caracterização morfológica

O conhecimento das características físicas e químicas dos alimentos, consumidos pela população é de suma importância no que diz respeito à orientação nutricional, ao controle de qualidade do alimento e subsidia a identificação das espécies promissoras, tendo em vista seu aproveitamento industrial e a aplicação de estudos de melhoramento genéticos (Oliveira et al., 2010).

A busca de genótipos cada vez mais produtivos tem sido o principal foco dos programas de melhoramento. Além da seleção direta baseada na produtividade, outras estratégias vêm sendo utilizadas em alguns programas de melhoramento a fim de maximizar os ganhos com a seleção. Isso inclui a avaliação de caracteres

morfológicos a fim de discriminar melhor os genótipos e identificar aqueles de maior importância na caracterização dos materiais genéticos. Essas ferramentas proporcionam aos melhoristas uma melhor orientação na escolha das melhores variáveis a serem utilizadas nos programas de melhoramento (Cruz et al. 2004).

Os caracteres morfológicos podem ser classificados em dois tipos, os quantitativos e os qualitativos, que são definidos de acordo com a interação com o ambiente. Os qualitativos são de pouca interação com o ambiente, assim não sofrem tanta influência ambiental e por terem alta herdabilidade não sofrem modificações expressivas, refletindo as características da planta como a coloração dos frutos e flores, padrão foliar, hábito de crescimento, formato do fruto, entre outros. Já os quantitativos sofrem muito efeito do ambiente, são de baixa herdabilidade e podem vir a alterar os caracteres dependendo das respostas da planta ao ambiente, tratando, por exemplo, de altura da planta, diâmetro do caule e do fruto, comprimento do fruto, produção, entre outros (Milach, 1998).

2.7. Melhoramento da cajazeira

Segundo Resende et al. (2005), o conhecimento do produto comercial de interesse define alguns dos caracteres e objetivos do melhoramento necessários ao germoplasma a ser melhorado. A cajazeira apresenta elevada variabilidade quanto ao porte, arquitetura, formato da copa, fenologia da planta, características físicas e químicas de folhas e frutos e longo período de juvenilidade, atributos que inviabilizam o cultivo comercial (Santana, 2010). Nesse sentido, Sacramento et al. (2008), considerando a elevada variabilidade genética existente nestas espécies frutíferas, recomenda que inicialmente seja realizada seleção massal para escolha de genótipos com atributos superiores, e posteriormente, proceder a competição e a avaliação dos genótipos obtidos, em diferentes condições.

Para a implantação de pomares comerciais da cajazeira, há a necessidade de obtenção de genótipos produtivos, com porte e arquitetura adequados, facilitando os tratos culturais, como a poda e colheita, os tratos fitossanitários e permitindo a adoção de modernas tecnologias de produção, como plantios mais adensados resultando num melhor uso das áreas de cultivo precoces, reduzindo o tempo necessário para iniciar a fase produtiva, e com uniformidade nas fases fenológicas, sobretudo quanto ao florescimento e ciclo de frutificação (Souza, 2008).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARTH, S.; MELCHINGER, A. E.; LUBBERST, E. D. T. Genetic diversity in *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. Investigated by cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) and Inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. **Molecular Ecology**, 11:495-505, 2002.
- BENZAQUEM, D. C.; FREITAS, D. V.; CONTIM, L. A. S.; VERAS, Y. T.; BARROS, W. G.; SAMPAIO, P. de T. B. Seleção de primers ISSR para análise genético-populacional em espécies do gênero *Aniba*. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 61., Manaus. **Anais...** Manaus: SBPC, 2009. Disponível em: Acesso em: 22 nov. 2015.
- BOSCO, J.; SOARES, K. T.; AGUIAR FILHO, S. P. de; BARROS, R. V. **A cultura da cajazeira**. João Pessoa: Emepa, 2000. 229 p.
- BOTREL, M. C.; CARVALHO, D. Variabilidade isoenzimática em populações naturais de jacarandá paulista (*Machaerium villosum* Vog.), **Revista Brasileira de Botânica**. 27:621-627, 2004.
- BUCKLEY, D. P.; O'MALLEY, D. M.; APSIT, V.; PRANCE, G. T.; BAWA, K. S. Genetics of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.: Lecythidaceae). Genetic variation in natural populations. **Theoretical and Applied Genetics**.76:923-928, 1988.
- BRANDAO, M. M. **Diversidade genética de *Myrcia splendens* (SW.) DC. (Myrtaceae) por marcadores ISSR em sistema corredor-fragmento semidecíduais no sul de Minas Gerais**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2008. 80 p. (Dissertação - Mestrado em Engenharia Florestal).
- COUTINHO, L, M. O conceito de bioma. **Acta Botânica Brasílica**. 20:13-23, 2006.
- CRUZ, C. D. A informática no melhoramento genético. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-ILGLIS, M. C. (ed). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 1085-1118.
- CRUZ, C. D; REGAZZI, A. J; CARNEIRO, P. C. S. Divergência genética. In: CRUZ, C.D; REGAZZI, A.J; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento**. Viçosa: UFV, 2004. p. 377-413, 2004.
- DONADIO, L.C.; FERREIRA, F.R. **Melhoramento da Mangueira**. Disponível em: http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=7818. Acesso em: 24, outubro, 2015.
- ESTOPA, R. A.; SOUZA, A. M.; MOURA, M. C. de O.; BOTREL, M. C. G.; MENDONÇA, E. G.; CARVALHO, D. Diversidade genética em populações naturais de candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) Macleish). **Scientia Forestalis**. 70: 97-106, 2006.

FERREIRA, M. E.; GRATRAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1998. 220p.

FRAIFE FILHO, G. de A.; LEITE, J.B.V.; RAMOS, J.V. Cajá. CEPLAC – **Comissão executiva do plano da lavoura cacaueteira**. Disponível em: <<http://www.ceplac.gov.br/radar/caja.htm>>. Acesso em: 13, outubro, 2015.

FREITAS, M. L. M.; AUKAR, A. P. de A.; SEBBENN, A. M.; MORAES, M. L. T.; LEMOS, E. G. M. Variabilidade genética intrapopulacional em *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. por marcador AFLP. **Scientia Forestalis**. 68:21-28, 2005.

FONSECA, C. E. L. da; RIBEIRO, J. F. Fruteiras do cerrado: estágio atual e perspectivas futuras. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS, 1., 1992, Cruz das Almas. **Anais...** Cruz das Almas: Embrapa/CNPMP/SBF, 1992. p. 63-75.

GUPTA, M.; CHYI, Y.; ROMERO-SEVERSON, J.; OWEN, J. L. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. **Theoretical and Applied Genetics**, 89: 998–1006, 1994.

HAMRICK, J. L. The Distribution of genetic variation within and among natural plant populations. In: SCHONEWALD-COX. C, M.; CHAMBERS, S. M.; MACBRYDE, B.; THOMAS, W. L. (ed). **Genetic and Conservation**. Benjamin Cummings: Menlo Park, 1982. P.335-348.

JUSTINIANO, M. J.; FREDERICKSEN, T. S.; Nash, D. **Ecología y silvicultura de especies menos conocidas – Azucaró *Spondias mombin* L., Anacardiaceae**. Santa Cruz, Bolívia. 43 p., 2001.

LORENZI, H. **Arvores brasileira: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 368 p. 1992.

LOZANO, N. B. Desarrollo y anatomia del fruto del jobo. (*Spondias mombin* L.). **Caldasia**.14:465-490, 1986.

MACIEL, M. I. S.; GUERRA, I.C.S. Usos e aplicações de *Spondias*: processamento e industrialização. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE UMBU, CAJÁ E ESPÉCIES AFINS, 20., 2008, Recife. **Anais...** Recife: Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA/UFRPE, 2008. 180 p.

MIELKE, J. C.; FACHINELLO, J. C.; RASEIRA, A. Fruteiras nativas – Características de 5 mirtáceas com potencial para exploração comercial. **Hortisul**. 1:32-36, 1990.

MILACH, S. C. K. Marcadores de DNA. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, 5:14-17, 1998.

PEREIRA, M. G.; PEREIRA, T. N. S. Marcadores moleculares no pré- melhoramento de plantas. In: BORÉN, A.; CAIXETA, E.T. (ed). **Marcadores Moleculares**, Viçosa, 2006. 106 p.

- PRANCE, G. T.; SILVA, M. F. **Árvores de Manaus**. Manaus: INPA, 1975. 312 p.
- PRIMACK, R. B.; RODRIGUES, E. **Biologia da conservação**. Londrina: Editora Planta, 2001. 327p.
- QUEIROZ, M. A.; LOPES, M A. Importância dos recursos genéticos vegetais para o agronegócio. In: NASS, L. L. (ed). **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília: Embrapa, 2007. 119 p.
- RAJORA, O. P.; PLUHAR, S. A. Genetic diversity impacts of forest fire, forest harvesting, and alternative reforestation practices in black spruce (*Picea mariana*). **Theoretical and Applied Genetics**. 106:1203-1212, 2003.
- RAPOSO, A. **Estrutura genética e fluxo gênico de populações naturais de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl., Meliaceae) visando o manejo e a conservação da espécie**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2007.117p. (Tese - Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- RESENDE, M. D. V. de. Seleção recorrente e o melhoramento genético do eucalipto no Brasil. In: Simpósio de atualização em genética e melhoramento de plantas, 9, 2005, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2005, p.59-84.
- ROCHA, O. J.; LOBO, J. A. Genetic diversity and outcrossing rates in the guanacaste tree (*Enterolobium cyclocarpum* Jacq.) in the dry forests of Costa Rica. In Recent Advances in Biotechnology for Tree Conservation and Management, **Proceedings of an IFS Workshop**. International Foundation for Science (IFS), Stockholm, 1998.p.65-81.
- RUAS, E. A. **Estudos de diversidade genética e anatomia ecológica de populações da espécie arbórea ciliar da bacia do Rio Tibagi *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae)**. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2006. 127p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Biologia Molecular).
- SACRAMENTO, C. K.; SOUZA, F. X. **Cajá (*Spondias mombin* L.)**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 42p.
- SACRAMENTO, C. K.; AHNERT, D.; BARRETO, W. S; FARIA, J. C. Recursos genéticos e melhoramento de *Spondias* na Bahia - cajazeira, cirigueleira e cajaraneira. In: LEDERMAN, E.; LIRA JUNIOR, J. S.; SILVA JUNIOR, F. (ed). **Spondias no Brasil: Umbú, Cajá e Espécies Afins**. Recife: UFRPE, 2008. p.54-62.
- SANTANA, F. F. **Caracterização de genótipos de cajazeiras**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2010. (Tese - Doutorado em Agronomia).
- SEBASTIAN, V. A.; CRUZ, L. D.; SUBRAMANIAN, R. B.; BRAGANZA, V. J. Assessment of Genetic Diversity within and among Populations of *Tylophora rotundifolia* Using RAPD Markers. **Gene Conserve**. 9:94-117, 2010.

SILVA, A. H. B. **Caracterização morfo-biométrica, seleção e variabilidade genética para caracteres qualitativos e quantitativos em progênies de *Physalis angulata* L.** Feira de Santana: Dissertação Universidade Estadual de Feira de Santana, 2007. 76 p. (Dissertação- Mestrado em Botânica).

SOARES, E. B.; GOMES, R. L. F.; CARNEIRO, J. G. de M. e; NASCIMENTO, F. N. do; SILVA, I. C. V.; COSTA, J. C. L. Caracterização física e química de frutos de cajazeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 28:518-519, 2006.

SOUZA, F. X. Enxertia de cajazeira (*Spondias mombin* L.) sobre porta-enxertos de umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Câm.). **Agrotropica**. 10:189-192, 1998.

SOUZA, F. X. **Crescimento e Desenvolvimento de Clones enxertados de Cajazeira na Chapada do Apodi, Ceará.** Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2005. 80 p. (Tese – Doutorado em agronomia).

SOUZA, F. X. Recursos genéticos e melhoramento de *Spondias* no Brasil. II - cajazeira. In: SOUZA, F. X.; CAVALCANTI, N. B. (ed) **Produção processamento e mercado para *Spondias***. Fortaleza: Instituto Frutal 2008. 86 p.

SOUZA, J. C. **Variabilidade genética e sistemas de cruzamento em populações naturais de umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. cam.).** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 86 p. (Tese - Doutorado em genética e Melhoramento).

SOUZA, N. R. Conservação de recursos fitogenéticos da Amazônia em coleções diversificadas avaliação do estabelecimento de doze espécies. **Boletim de Pesquisa 2**. EMBRAPA, Manaus, 1997.

STACEY, E. A.; HAMRICK, J. L.; NASON, J. D.; HUBBEL, S. P.; FOSTER, R. B.; CONDIT, R. Pollen dispersal in low-density populations of three neotropical tree species. **American Naturalist**. 148:245-298, 1996.

VARSHNEY, R. K.; GRANER, A.; SORRELLS, M. E. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. **Trends Biotechnology**. 23:48-55, 2005.

YANG, W.; OLIVEIRA, A. C.; GODWIN, I.; SCHERTZ, K.; BENNETZEN, J. L. Comparison of DNA marker technologies in characterizing plant genome diversity: Variability in chinese sorghums. **Crop Science**, 36: 1669-1666,1996.

4. CAPÍTULOS

4.1 CAPÍTULO 1

DIVERSIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES NATURAIS DE *Spondias mombin* L. POR MEIO DE MARCADORES MOLECULARES

RESUMO

A cajazeira (*Spondias mombin* L.) é uma espécie frutífera da região amazônica, cujo fruto é muito utilizado pela população local. Devido ao aumento do consumo dos frutos e seus derivados, a espécie vem despertando interesse para o cultivo, porém ainda é pouco estudada. O objetivo desse estudo foi analisar a diversidade genética entre e dentro de populações de *S. mombin*, com ocorrência natural no norte do Estado de Mato Grosso através de marcadores ISSR. Foram avaliados 126 indivíduos localizados na região Norte do Estado de Mato Grosso distribuídos entre os municípios de Alta Floresta (AFL) 42, Marcelândia (MAR) 41 e Nova Bandeirantes (NBA) 43. O DNA total de cada genótipo foi extraído e as amplificações foram via PCR com o emprego de 14 *primers* de ISSR, previamente selecionados. As amostras foram aplicadas em gel de agarose 1,5% e submetidas à corrida de eletroforese. Os resultados permitiram observar que os 14 *primers* amplificaram 99 fragmentos e que todos os marcadores utilizados, exceto o DiGA3'A, apresentaram PIC acima de 0,25, sendo, portanto recomendados para análise da diversidade em *S. mombin*. A diversidade genética das populações AFL ($H = 0,2430$ e $I = 0,3547$) e MAR ($H = 0,2062$ e $I = 0,2993$) foi maior quando comparadas a de NBA que apresentou a menor diversidade genética ($H = 0,2002$ e $I = 0,2957$). A AMOVA revelou que 77,38% da variação genética total encontra-se dentro de populações enquanto 22,62% entre populações. As populações AFL e NBA são as mais similares geneticamente e a população MAR é a mais distante geneticamente, sugerindo que a estrutura genética em *S. mombin* é determinada pela distância geográfica. O dendrograma gerado pelo método UPGMA possibilitou a formação de 9 grupos distintos de acordo com a localidade em que os genótipos se encontram; no agrupamento do "Structure" houve a formação de três grupos, demonstrando que os indivíduos ficaram alocados nas suas devidas populações. Ambas as populações podem ser fonte de genótipos para bancos de germoplasma e para um futuro programa de melhoramento por apresentarem diversidade genética.

PALAVRAS-CHAVE: Cajá, Marcador ISSR, Variabilidade Genética.

GENETIC DIVERSITY IN NATURAL POPULATIONS OF *Spondias mombin* L. USING MOLECULAR MARKERS

ABSTRACT

Caja tree is a fruitful specie of the Amazon region, its fruit is very used by local populations. Due to increased consumption of fruits and derivatives, the species is attracting interest for crop, but it is little studied. The objective this study was to analyze the genetic diversity among and within populations of *S. mombin* with natural occurrence in the north Mato Grosso state through ISSR markers. One hundred and twenty six individuals were evaluated. They are located in north Mato Grosso and distributed among the municipalities: Alta Floresta (AFL) 42, Marcelandia (MAR) 41 and Nova Bandeirantes (NBA) 43. Total DNA of each genotype was extracted and amplified by PCR with the use of 14 ISSR primers previously selected. The samples were applied to agarose gel 1.5% and submitted to electrophoresis. Results allowed to observe that the 14 primers amplify 99 fragments and that all the markers used, except DiGA3'A, showed PIC above 0.25, therefore they are recommended for analysis of diversity of *S. mombin*. The genetic diversity of populations AF ($R = 0.2430$ and $I = 0.3547$) and MAR ($H = 0.2062$ and $I = 0.2993$) were higher when compared to NBA that showed the lowest genetic diversity ($H = 0.2002$ and $I = 0.2957$). The AMOVA revealed that 77.38% of the total genetic variation are within populations while 22.62% are among populations. Populations AFL and NBA are genetically more similar and population MAR is genetically the most distant, suggesting that genetic structure of *S. mombin* is determined by geographical distance. The dendrogram produced by UPGMA method allowed the formation of nine distinct groups according to locality of genotypes, in the grouping of "Structure" there was the formation of three groups, demonstrating that individuals were allocated in their populations. Both populations can be a source of genotypes for germplasm banks and for a future breeding program because showed genetic diversity.

KEY WORDS: Yellow Mombin, ISSR markers, Genetic variability.

INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta uma vasta diversidade de tipos de solos e climas, favorecendo o cultivo de diversas frutíferas tropicais, elevando o seu potencial na fruticultura (Simão, 1998). Na Amazônia, essa potencialidade é encontrada nas mais diversas espécies das famílias botânicas como por exemplo, Fabaceae, Bignoniaceae, Lauraceae, Lecythidaceae, Rubiaceae, Anacardiaceae, Malvaceae, Arecaceae, entre outras (Neto, 2011).

A cajazeira (*Spondias mombin* L.) é uma espécie frutífera pertencente à família Anacardiaceae, cujo gênero inclui espécies como a cirigueleira, cajaraneira e umbuzeiro (Souza, 2005). A espécie encontra-se dispersa nas regiões tropicais da América, África e Ásia, sendo no Brasil encontrada, principalmente, nas regiões Norte e Nordeste. Os frutos recebem diferentes denominações sendo conhecidos como: cajá, cajá verdadeiro, cajá-mirim ou taperebá (Sacramento e Souza, 2000).

O fruto da espécie possui um alto potencial agroindustrial devido a sua polpa apresentar elevada qualidade nutricional, excelente sabor e odor, sendo comumente utilizada na produção de sucos, néctares, sorvetes, geleias, vinhos, licores entre outras receitas, e é caracterizado como uma das frutas mais apreciadas e comercializadas nas Regiões Norte e Nordeste do Brasil (Silva Junior et al., 2004).

Devido ao aumento do consumo dos frutos da cajazeira e de seus derivados, a espécie vem despertando interesse para o cultivo, porém ainda há poucas informações disponíveis para a implantação de pomares comerciais. A inserção de *S. mombin* como espécie frutífera nos modelos agrônômicos modernos requer, a identificação de materiais propagativos, cujos genótipos apresentem elevada capacidade produtiva (Bosco et al., 2000).

Para que um programa de melhoramento seja iniciado é necessário que haja variabilidade genética visando a seleção de genótipos superiores, por isso o estudo da variabilidade genética intraespecífica e o conhecimento de como está estruturada no espaço são de extrema importância para a caracterização dos recursos genéticos, delinear estratégias de conservação genética, manejo sustentável e melhoramento genético da espécie (Estopa, 2003; Kageyama et al., 2003; Sahyun, 2007; Rossi et al., 2009; Rivas et al., 2013).

Segundo Costa et al. (2011), informações sobre a variação genética de espécies nativas, tanto dentro quanto entre as populações, são fundamentais para o desenvolvimento de estratégias que possibilitem a domesticação e incorporação dessas espécies nos sistemas produtivos regionais, bem como para dar suporte a planos de conservação dos recursos genéticos.

As técnicas moleculares possibilitam acelerar os processos de análise da variabilidade e seleção principalmente quando se trabalha com espécies perenes, não necessitam que a planta complete seu ciclo reprodutivo para efetuar as análises, não sofrem interferência do meio e, ainda, apresentam alta eficiência para discriminação de materiais (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Dentre as diversas técnicas moleculares, os marcadores ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) tem sido utilizados com bastante sucesso para relevar o polimorfismo molecular em diversas espécies vegetais (Almeida Júnior et al., 2008), sendo considerado como um dos marcadores amplamente variáveis devido à grande ocorrência e distribuição no genoma (Ellegren, 2004). Além disso, é um marcador que possui a vantagem de não requerer informações prévias do genoma revelando padrões altamente polimórficos (Zietkiewicz et al., 1994), mostrando-se úteis em estudo genéticos, especialmente no estudo da diversidade genética e das relações de indivíduos proximamente relacionados (Salimath et al., 1995).

Vários estudos realizados com marcador ISSR têm demonstrado sua eficiência em análises da variabilidade genética em populações vegetais (Silva, 2009; Santana et al., 2011; Rocha et al., 2012; Rivas et al., 2013; Giustina et al., 2014; Rossi et. al., 2014).

Neste contexto, o presente estudo objetivou avaliar a diversidade genética entre e dentro de populações de *Spondias mombin*, com ocorrência natural no Norte do Estado de Mato Grosso por meio de marcadores ISSR.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Estudo e Amostragem do material vegetal

A área de estudo está localizada na região Norte do Estado de Mato Grosso, compreendendo os municípios de Alta Floresta (09°52'32" S e 56°05'10" O), Marcelândia (11°05'22" S e 54°27'02" O) e Nova Bandeirantes (09°48'50" S e 57°51'43" O) (Figura 1). O clima da região é do tipo Equatorial quente e úmido, caracterizado por médias anuais de temperatura superiores a 24°C e pluviosidade acima de 2.500 mm. A altitude média varia de 200 a 290 m. Os solos, na sua maioria, pertencem à classe dos Latossolos, sob relevos planos e suavemente ondulados, com predomínio da agropecuária e exploração de madeira. Fundamentalmente, a vegetação é caracterizada pela Savana, Floresta Ombrófila e Floresta Estacional (Seplan-MT, 2006).

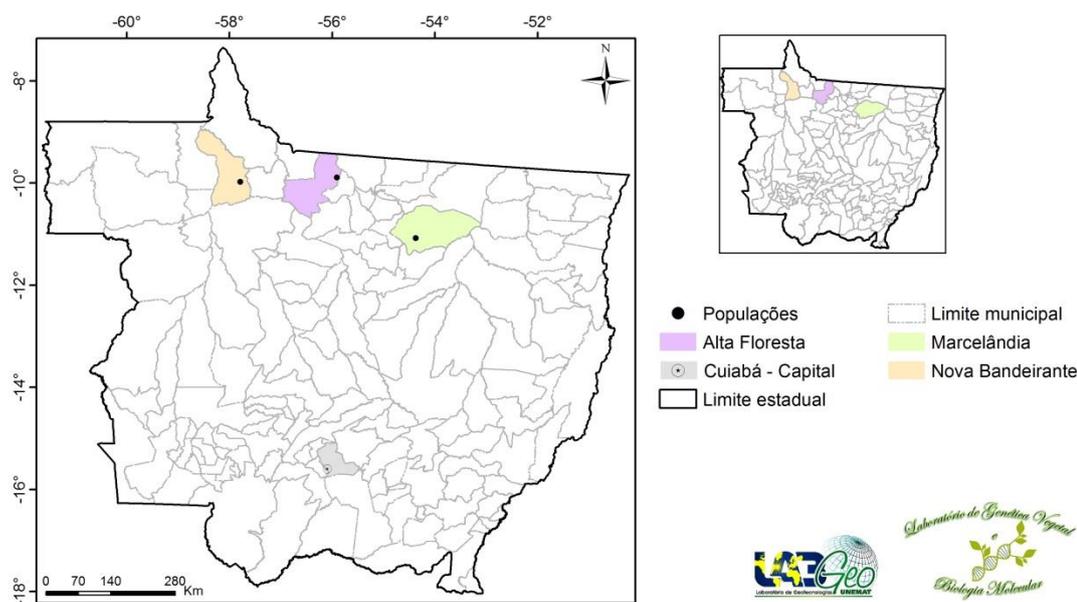


Figura 1. Localização geográfica dos três municípios Alta Floresta, Marcelândia e Nova Bandeirantes localizados na Amazônia Meridional, norte do Estado de Mato Grosso.

Em cada município foi selecionada uma área onde a espécie tem ocorrência natural, cada área se constituiu em uma população de estudo, totalizando três populações. Foram amostrados 126 indivíduos distribuídos entre os municípios de Alta Floresta (AFL) 42, Marcelândia (MAR) 41 e Nova Bandeirantes (NBA) 43.

Coleta do Material

Em cada indivíduo selecionado foi amostrado material foliar, os quais foram coletados com o auxílio de atiradeira manual e podão. Foram coletadas, preferencialmente, folhas jovens, sem danos mecânicos ou sinais de doença. Todo o material foi identificado por indivíduo, ainda em campo e armazenado em sílica gel.

O material foi transportado para o laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular do Campus Universitário de Alta Floresta - UNEMAT, e armazenado até a extração de DNA.

Extração e Quantificação de DNA

O DNA genômico total foi extraído de aproximadamente 100 mg de folhas seguindo o método CTAB (Brometo de Cetil Trimetil Amônio) descrito por Doyle e Doyle (1987) com modificações: aumento da concentração de polivinilpirrolidona (PVP) de 1% para 2%, CTAB de 2% para 5% e de β -mercaptoetanol de 0,2% para 3% no tampão de extração, além da redução do tempo de incubação a 65°C de 60 minutos para 30 minutos.

O tecido foliar foi lavado em água corrente e seccionado manualmente. Com almofariz e pistilo, o tecido foi macerado na presença de nitrogênio líquido. O produto resultante foi transferido para microtubos de 2 mL, ao qual foram adicionados 800 μ L de tampão de extração CTAB (100 mM Tris-HCl, pH 8,0; 1,4 M cloreto de sódio; 20 mM EDTA; 5% CTAB; 2% polivinilpirrolidona (PVP) e 3% β -mercaptoetanol), agitados em vórtex e incubados em banho-maria a 65°C por 30 minutos.

Após resfriamento em temperatura ambiente, os tubos foram centrifugados a 12.000 rpm em micro centrífuga por 10 minutos. Em seguida, a fase aquosa (sobrenadante) foi transferida para um novo tubo de 1,5 mL e adicionado 700 μ L de clorofórmio: álcool isoamílico 24:1 (v:v), os tubos foram agitados por aproximadamente 1 minuto em vórtex e centrifugados a 10.000 rpm em micro centrífuga por 10 minutos.

O sobrenadante foi transferido para um novo tubo e precipitado com o volume equivalente de álcool isopropílico gelado (-20°C) por cerca de 3 horas em freezer a -20°C. Após este período, o material foi centrifugado a 12.000 rpm por 10

minutos e o precipitado foi lavado duas vezes com álcool etílico a 70% (v/v) e uma vez com álcool etílico a 95% (v/v).

Depois da secagem por aproximadamente 15 minutos em temperatura ambiente, o precipitado foi ressuscitado em 40 µL de TE 0,1 mM (10 mM Tris-HCl; 1 mM EDTA, pH 8,0) com 0,12 µL RNase. A solução foi incubada em banho-maria a 35°C por 30 minutos. Posteriormente, os microtubos foram armazenados em geladeira (4°C) por 24 h e depois em freezer (-20°C).

A qualidade e a quantificação do DNA foram feitas através da técnica de eletroforese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídio. A quantificação foi comparada através de pesos moleculares de DNA padrão (*lambda*) com amplitude de variação de 10, 20, 50 e 100 ng. O DNA quantificado foi diluído para a obtenção das soluções de trabalho a 5ng/µL. (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Amplificação e genotipagem de locos ISSR

Inicialmente foram realizados testes de amplificação em três genótipos de cajá com 24 *primers* ISSR desenvolvidos pela *University of British Columbia* (UBC). Com base nos padrões de bandamento para intensidade, polimorfismo e repetitividade, foram selecionados 14 dos 24 *primers* testados (Tabela 1) para a genotipagem de todos os indivíduos.

As reações de amplificação via PCR, foram realizadas em termociclador Biocycler com um volume final de 20 µL, sendo 1 µL de DNA (\pm 20 ng), 2 µL de tampão 10x (1M KCl; 1M Tris pH 8.3; 1M MgCl₂; 10% Tween 20), 2 µL de MgCl₂ (25 mM), 3 µL de *primer* (0,2 mM), 4 µL de dNTP (0,1 mM de cada dNTP), 1 µL DMSO e 0,2 µL de Taq polimerase (5 U/µl).

O programa de amplificação utilizado foi o proposto por Silva (2009), sendo: 15 minutos a 95°C (desnaturação inicial); 35 ciclos de 30 segundos a 94°C (desnaturação); 45 segundos a 48-50°C (anelamento); dois minutos a 72°C (extensão) e sete minutos a 72°C (extensão final). A temperatura de anelamento variou de acordo com o iniciador utilizado.

Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,5% em tampão de corrida TBE 1X (89,15 mM de Tris Base; 88,95 mM de Ácido Bórico e 2,23 mM EDTA), com voltagem constante de 90 V por aproximadamente quatro horas. A coloração do gel foi realizada com brometo de

etídeo (0,6 ng/mL). Para comparação dos tamanhos dos fragmentos amplificados foi utilizado o DNA ladder de 100 pb (Invitrogen™).

Em seguida, o gel foi fotografado quando irradiado por luz ultravioleta pelo Transiluminador UVB LTB-21x26 (Loccus Biotecnologia®) e câmera digital (Sony®).

Tabela 1. *Primers* ISSR utilizados para a amplificação dos 129 genótipos de *S. mombin* amostrados nas três populações localizadas nos municípios de Alta Floresta, Marcelândia e Nova Bandeirantes, MT. TM = Temperatura de anelamento referente ao *primer*

Nome do <i>Primer</i>	Sequência do <i>Primer</i> (5' – 3')	TM (°C)
DiAG3'C	AGAGAGAGAGAGAGAGC	50
DiGA3'T	GAGAGAGAGAGAGAGAT	50
DiGA3'A	GAGAGAGAGAGAGAGAA	50
DiAC3'T	ACACACACACACACT	50
DiAC3'C	ACACACACACACACC	51
DiAC3'G	ACACACACACACACG	50
DiAG3'YC*	AGAGAGAGAGAGAGAGYC*	50
DiAC3'YT*	ACACACACACACACACYT*	50
TriCTC	CTCCTCCTCCTCCTCCTC	50
TriGAA	GAAGAAGAAGAAGAAGAA	50
DiCA5'BDB	BDBCACACACACACACA	50
DiTG5'HVH	HVHTGTGTGTGTGTGTG	50
TriACA3'RC	ACAACAACAACAACARC	48
DiGA3'C	GAGAGAGAGAGAGAGAC	50

*Y = C ou T; R = A ou G; V = A, C ou G; H = A, C ou T.

Análise estatística

A presença (1) e ausência (0) dos fragmentos amplificados (bandas) foram usadas para a construção de uma matriz binária, a partir da qual foi calculada a porcentagem de polimorfismo obtida com cada *primer* utilizado, por meio da equação 1:

$$P = \frac{nbp}{nbt} = 100 \quad (\text{Equação 1})$$

em que P = porcentagem de polimorfismo; nbp = número de bandas polimórficas; nbt = e número de bandas total. As bandas com coloração fraca e baixa definição foram descartadas.

A diversidade genética do loco ou PIC (Índice de Conteúdo Polimórfico) é uma estimativa utilizada para a avaliação do poder discriminatório de um loco. A informatividade do loco p_i é a frequência do alelo p no loco p_i , calculado pela equação 2:

$$PIC = 1 - \sum_i p_i^2 \quad (\text{Equação 2})$$

A informatividade do *primer* p_{ij} é a frequência do alelo p do loco i , no *primer* j , (Rezende et al., 2009), sendo calculada pela equação 3:

$$PIC_{primer} = 1 - \sum_j \sum_j p_{ij}^2 \quad (\text{Equação 3})$$

Para caracterização da variabilidade genética, foi utilizado o Programa POPGENE (Population Genetic Analysis) versão 1.32 (Yeh et al., 1999), utilizando-se parâmetros para dados diplóides dominantes. Estimaram-se a diversidade genética de Nei (1978) (H), a porcentagem de locos polimórficos ($P\%$) e o índice de Shannon (I) para cada população e para o conjunto de populações. Também foi realizada a análise de diversidade genética entre populações pelo método de Nei (1978), estimando-se a heterozigosidade total (H_t), a diversidade gênica média dentro de populações (H_s), a divergência genética média entre populações (G_{st}) e o fluxo gênico (N_m).

A análise de variância molecular (AMOVA) foi utilizada para revelar a distribuição da diversidade genética dentro e entre as populações; ela foi realizada de acordo com Excoffier et al. (1992), com o auxílio do programa ARLEQUIN 3.01 (Excoffier et al., 2006).

Para formação da matriz de dissimilaridade foi utilizado o complemento aritmético do Índice de Jaccard. Esse coeficiente consiste na comparação do número de presenças de bandas comuns e o número total de bandas envolvidas, excluindo o número de ausências conjuntas Meyer (2002). Tal coeficiente é definido pela equação 4:

$$D_{ij} = 1 - S_{ij} \quad (\text{Equação 4})$$

Onde:

$$S_{ij} = \frac{a}{a + b + c}$$

a = é o número de bandas presentes nos acessos i, j ;

b = é o número de bandas presentes no acesso i e ausentes no acesso j ;

c = é o número de bandas presentes no acesso j e ausentes no acesso i .

A matriz de dissimilaridade genética foi utilizada para a análise de agrupamento dos genótipos pelo método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Average*) que foi computado com o auxílio do programa GENES (Cruz, 2008).

O programa “Structure” (Pritchard et al., 2000), baseado em estatística bayesiana foi utilizado para inferir o número de grupos (K), nos quais os genótipos encontram-se estruturados. Foram realizadas 20 corridas para cada valor de K, 200.000 interações iniciais (“burn-ins”) e 500.000 simulações de Monte Carlo via Cadeias de Markov (MCMC). Para definição do K mais provável em relação aos propostos, foram utilizados os critérios descritos por Pritchard e Wen (2004) e Evano et al. (2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 14 *primers* ISSR amplificaram um total de 99 fragmentos nos 126 genótipos de cajá analisados, sendo 64 bandas polimórficas (64,65%) e 35 monomórficas (35,35%). A média de bandas amplificadas por *primer* foi de 6,97.

Segundo Alves et al. (2007), a maioria das espécies arbóreas tropicais apresentam um grande número de alelos por loco. Rossi et al. (2014) ao avaliar genótipos de *Mauritia flexuosa* obtiveram uma média de 10,7 bandas por *primer*, valor próximo ao encontrado por Santana et al. (2011) ao estudarem 17 acessos de umbu-cajazeiras pertencentes ao BAG Fruteiras Tropicais da Embrapa Mandioca e Fruticultura com base em marcadores ISSR, encontraram uma média de 10 bandas por *primer* em contraste ao encontrado no presente estudo, que foi de 6,97 se tratando de populações naturais, nas quais não foi realizada seleção de genótipos. Rivas et al. (2013) ao estudar populações nativas de *Theobroma subincanum*, obtiveram resultados semelhantes ao encontrado nesse estudo onde o número médio de bandas por *primer* foi de 6,69.

O iniciador que apresentou o maior conteúdo de informação polimórfica (PIC) em cada população foi AFL (DiAC3'C: 0,45), MAR (DiTG5'HVH: 0,49) e NBA (DiAC3'C: 0,48). Os que apresentaram menores valores foram AFL (DiTG5'HVH: 0,14), MAR (DiGA3'A/DiAC3'G/DiAG3'YC* ambos com 0,10) e NBA (TriCTC: 0,04) (Tabela 2).

Segundo a classificação de Botstein et al. (1980), marcadores com valores de PIC superiores a 0,5 são considerados muito informativos, valores entre 0,25 e 0,50 mediamente informativos, e valores inferiores a 0,25, pouco informativos. De acordo com Boza et al. (2013), marcadores altamente polimórficos são úteis na identificação da diversidade genética.

No geral, independente da população dos 14 marcadores utilizados, exceto o marcador DiGA3'A, 13 apresentaram o PIC acima de 0,25 sendo, portanto, os mais recomendados para a análise da diversidade em cajá.

Tabela 2. Número de fragmentos amplificados por *primer*, em nível de população: Alta Floresta (AFL), Marcelândia (MAR) e Nova Bandeirantes (NBA). NT= número total de bandas amplificadas; NP= número total de bandas polimórficas; %P= porcentagem de polimorfismo; PIC= conteúdo de informação polimórfica

Primers	Populações											
	AFL				MAR				NBA			
	NT	NP	%P	PIC	NT	NP	%P	PIC	NT	NP	%P	PIC
DiAG3'C	7	5	71,43	0,15	7	6	85,71	0,21	7	5	71,43	0,34
DiGA3'T	6	2	33,33	0,25	6	3	50,00	0,22	6	3	50,00	0,35
DiGA3'A	5	2	40,00	0,16	5	1	20,00	0,10	5	2	40,00	0,11
DiAC3'T	10	7	70,00	0,24	10	6	60,00	0,23	10	8	80,00	0,42
DiAC3'C	8	6	75,00	0,45	7	5	71,43	0,43	9	7	77,78	0,48
DiAC3'G	7	6	85,71	0,27	7	3	42,86	0,10	7	3	42,86	0,12
DiAG3'YC*	6	4	66,67	0,31	6	2	33,33	0,10	6	2	33,33	0,05
DiAC3'YT*	7	4	57,14	0,29	7	3	42,86	0,24	7	3	42,86	0,31
TriCTC	8	4	50,00	0,38	8	4	50,00	0,12	8	2	25,00	0,04
TriGAA	7	5	71,43	0,43	7	5	71,43	0,38	7	5	71,43	0,38
DiCA5'BDB	8	4	50,00	0,41	8	4	50,00	0,34	7	3	42,86	0,43
DiTG5'HVH	4	2	50,00	0,14	4	2	50,00	0,49	4	2	50,00	0,29
TriACA3'RC	9	5	55,56	0,34	9	3	33,33	0,13	9	4	44,44	0,23
DiGA3'C	6	4	66,67	0,21	6	3	50,00	0,15	6	4	66,66	0,44
Média	7	4,28	61,21	0,29	6,92	3,57	50,78	0,23	7	3,78	52,76	0,28

O maior índice de diversidade estimado a partir de Nei (1978) (H) e de Shannon (I) foi encontrado nas populações AFL (H = 0,2430 e I = 0,3547) e MAR (H = 0,2062 e I = 0,2993), enquanto que NBA apresentou a menor diversidade genética (H = 0,2002 e I = 0,2957); em nível de espécie, a diversidade apresentou os seguintes resultados: (H = 0,2689 e I = 0,3971) (Tabela 3). A diversidade de Shannon e de Nei variam de 0 a 1, sendo 0 considerado diversidade gênica nula e 1 diversidade gênica máxima, os dados obtidos revelaram que há diversidade genética nas populações naturais de *S. mombin*.

O índice de diversidade em outras espécies com as mesmas condições deste estudo podem permitir a compreensão das magnitudes de H e I obtidos. Oliveira et al. (2008) relataram altos níveis de diversidade nas populações de *Dimorphandra mollis* (H = 0,303 e I = 0,460); da mesma forma, Rossi (2007) mostrou alta diversidade em *Mauritia flexuosa* (H = 0,206 e I = 0,308); Estopa et al. (2006) em populações naturais (H = 0,490 e I = 0,330) de *Eremanthus erythropappus*; e Batista et al. (2008) em *Papiro tibouchina* (H = I = 0,230 e 0,340). Estes resultados são relativamente semelhantes aos obtidos no presente estudo. No entanto, a

valores de H e I descritos nestes trabalhos foram mais elevados do que os obtidos para *S. mombin*.

Dentre as populações analisadas, AFL e NBA apresentaram maior porcentagem de polimorfismo, 61,21% e 52,76% respectivamente, quando comparadas a MAR que apresentou 50,78%.

Tabela 3. Diversidade genética dentro de populações naturais de cajazeira localizadas nos municípios de Alta Floresta (AFL), Marcelândia (MAR) e Nova Bandeirantes (NBA), MT. Estimada via índice diversidade gênica de Nei (H) e Índice de diversidade gênica de Shannon (I); porcentagem de polimorfismo (%P); tamanho da amostra (N)

Populações	N	P(%)	H	I
AFL	42	61,21	0,2430	0,3547
MAR	41	50,78	0,2062	0,2993
NBA	43	52,76	0,2002	0,2957
Espécie	126	71,72	0,2689	0,3971

A análise de variância molecular (AMOVA) indicou que 22,62% da variância total como diferença entre populações e 77,38 dentro de populações, demonstrando que a maior diferenciação genética está no componente intrapopulacional do que no componente interpopulacional (Tabela 4). Houve diferenciação genética significativa ($p < 0,01$) entre as populações.

Estes resultados corroboram com vários trabalhos realizados com espécies tropicais que afirmam que a maior diversidade genética ocorre em nível intrapopulacional (Pessoni, 2007; Oliveira e Silva, 2008; Rossi et al, 2009; Bertoni et al., 2010 e Brandão et al., 2011). Estudos da variabilidade genética em populações naturais de plantas em regiões tropicais, têm demonstrado que estas preservam grande variabilidade dentro das populações (Paiva, 1998).

Os resultados encontrados para *S. mombin* neste estudo estão de acordo com a afirmação de Hamrick e Godt (1996), espécies autógamias possuem baixa diversidade genética dentro de populações e alta diferenciação genética entre populações, quando comparadas com espécies alógamas como, por exemplo, a cajazeira.

Para espécies com reprodução cruzada (alógamas), estimativas da diferenciação genética entre populações naturais baseadas em dados de AMOVA com marcadores RAPD (um marcador dominante, como ISSR) tem normalmente sido inferiores a 28%. Para espécies autógamias, a estimativa da variação genética

interpopulacional tem normalmente sido superior a 70% (Nybom e Bartish, 2000). A diversidade genética entre as populações encontrada neste estudo foi de 22,62% (Tabela 4), o que se encontra dentro das estimativas de Nybom e Bartish (2000) para espécies com reprodução cruzada. Segundo Hartl (2008), espécies alógamas possibilitam que altas taxas de diversidade sejam encontradas dentro de populações, uma vez que a alogamia favorece a recombinação.

Outro parâmetro genético que permitiu verificar o fenômeno de deriva genética nas populações foi o F_{ST} (divergência genética interpopulacional) que foi estimado em 0,2262 (Tabela 4), o que indica um moderado nível de divergência genética entre as três populações estudadas, de acordo com Wright (1965) o F_{ST} acima de 0,25 indica ter uma grande diferenciação genética.

O valor encontrado de F_{ST} e, conseqüentemente, o valor da estimativa do fluxo gênico (Nm), sugere que o fluxo gênico tem sido suficiente para contrapor os efeitos da deriva, revelando uma diferenciação significativa entre populações, quando medida pelo índice de fixação F_{ST} .

Tabela 4. Análise de variância molecular (AMOVA) das três populações de *Spondias mombin* estudadas a partir de 14 marcadores de ISSR

Fonte de Variação	GL*	SQ*	CV*	VT(%)*	Valor de p*
Entre Populações	2	174,19	1,91	22,62	<0,01
Dentro de Populações	123	808,99	6,56	77,38	
Total	125	981,19	8,47		

*Grau de Liberdade (GL), Soma dos Quadrados (SQ), Componente de Variância (CV), Variância Total (VT) e P são as probabilidades de ter um componente de variância maior que os valores observados ao acaso. As probabilidades foram calculadas por 1023 permutações ao acaso. $F_{ST} = 0.2262$

A heterozigosidade total (H_t) estimada foi de 0,2688, constatando que a espécie apresenta, nestas populações, uma reserva de variabilidade genética. A porcentagem da divergência genética total encontrada entre populações (G_{ST}) foi de 0,1947 (Tabela 5).

Nas populações de *S. mombin* estudadas, a estimativa do fluxo gênico (Nm) ou número de migrantes por geração foi de 2,0684; através disto, conclui-se que há fluxo de genes de uma geração para outra e que as populações não estão isoladas geneticamente (Tabela 5).

Os valores de fluxo gênico inferiores a 1,0 indicam isolamento genético e sendo superiores a 1,0 são suficientes para impedir as perdas aleatórias de alelos

dentro das populações. Já o valor de fluxo gênico acima de quatro migrantes por geração indica homogeneização dos alelos dentro da população (Hartl e Clark, 1997).

Segundo Hamrick (2012), o fluxo gênico entre indivíduos dentro das populações e entre as populações podem ter grandes impactos sobre a distribuição da variação genética. Isso, porque o fluxo gênico, ao introduzir novas variações reduz a diferenciação genética entre as populações. Na verdade, um indivíduo migrante ou mais entre as populações é suficiente para prevenir a diferenciação substancial entre elas.

O valor do fluxo gênico observado pode estar associado ao fluxo gênico histórico, quando as populações faziam parte de uma única grande população ou constituíam. Assim, a interpretação desse dado deve ser feita com cautela, pois indica que as populações de diferentes regiões, apesar de geograficamente isoladas, apresentam alelos e frequências similares, como resultado de trocas gênicas antigas (Raposo et al., 2007).

Tabela 5. Parâmetros genéticos populacionais de *S. mombin*. HT: heterozigosidade total; HS: diversidade genética média dentro das populações; GST: divergência gênica entre populações; e Nm: fluxo gênico

	HT	HS	G _{ST}	Nm
Média	0,2688	0,2165	0,1947	2,0684
Desvio padrão	0,0394	0,0301		

A Tabela 6 demonstra uma estimativa da identidade genética e distância genética de Nei (1978) para todas as comparações par-a-par entre as populações. A distância genética de Nei varia de 0 a 1, e quanto mais próxima de 1 for a estimativa entre duas populações, mais distante geneticamente as duas populações serão. A distância genética entre AFL e MAR foi de 0,1018, para AFL e NBA 0,1002 e para MAR e NBA 0,1036, demonstrando que a população MAR é mais distante geneticamente das demais populações.

A maior identidade genética existiu entre as populações AFL e NBA (0.9047), enquanto que a menor ocorreu entre as populações MAR e NBA (0.9016). Os resultados demonstram que as populações AFL e NBA são as mais semelhantes geneticamente (0,9047), enquanto que as populações MAR e NBA são as mais distantes geneticamente (0,1036), evidenciando que as populações com maior

similaridade genética são as mais próximas geograficamente. Isto sugere que a estrutura genética em *S. mombin* pode ser determinada pela distância geográfica.

Tabela 6. Distância geográfica, distância genética e identidade genética de Nei (1978) entre as três populações de *S. Mombin*: Alta Floresta (AFL), Marcelândia (MAR) e Nova Bandeirantes (NBA), MT.

Populações	Distância genética	Identidade genética	Distância geográfica*
AFL com MAR	0,1018	0,9032	220 km
AFL com NBA	0,1002	0,9047	190 km
MAR com NBA	0,1036	0,9016	386 km

*Distância obtida através do programa *Google Earth™*, em linha reta.

O dendrograma gerado com base no UPGMA entre os 126 genótipos analisados formou nove grupos de acordo com a localidade em que os genótipos se encontram (Figura 2).

O grupo I alocou 21 genótipos da população MAR, o grupo II seis genótipos de AFL, o grupo III foi formado por três genótipos da população MAR, o grupo IV seis genótipos AFL, o grupo V com 15 genótipos de MAR, o grupo VI composto por 26 genótipos de AFL, o grupo VII alocou 44 genótipos, sendo 43 indivíduos da população NBA, e um genótipo da população de AFL ficou inserido neste mesmo grupo, o grupo VIII agrupou dois genótipos de MAR, no grupo IX estão agrupados três genótipos de AFL.

Todos dos indivíduos formaram agrupamentos bem definidos com genótipos da mesma população, exceto o genótipo 40 da população de AFL que ficou alocado no grupo VII da população de NBA.

A correlação cofenética evidenciou associação de 76% (CCC = 0,7600) entre as distâncias obtidas na matriz de dissimilaridade (complemento de Jaccard) e a matriz cofenética, segundo Vaz Patto et al. (2004), valores de correlação cofenética superiores a 0,56 refletem boa concordância entre as matrizes.

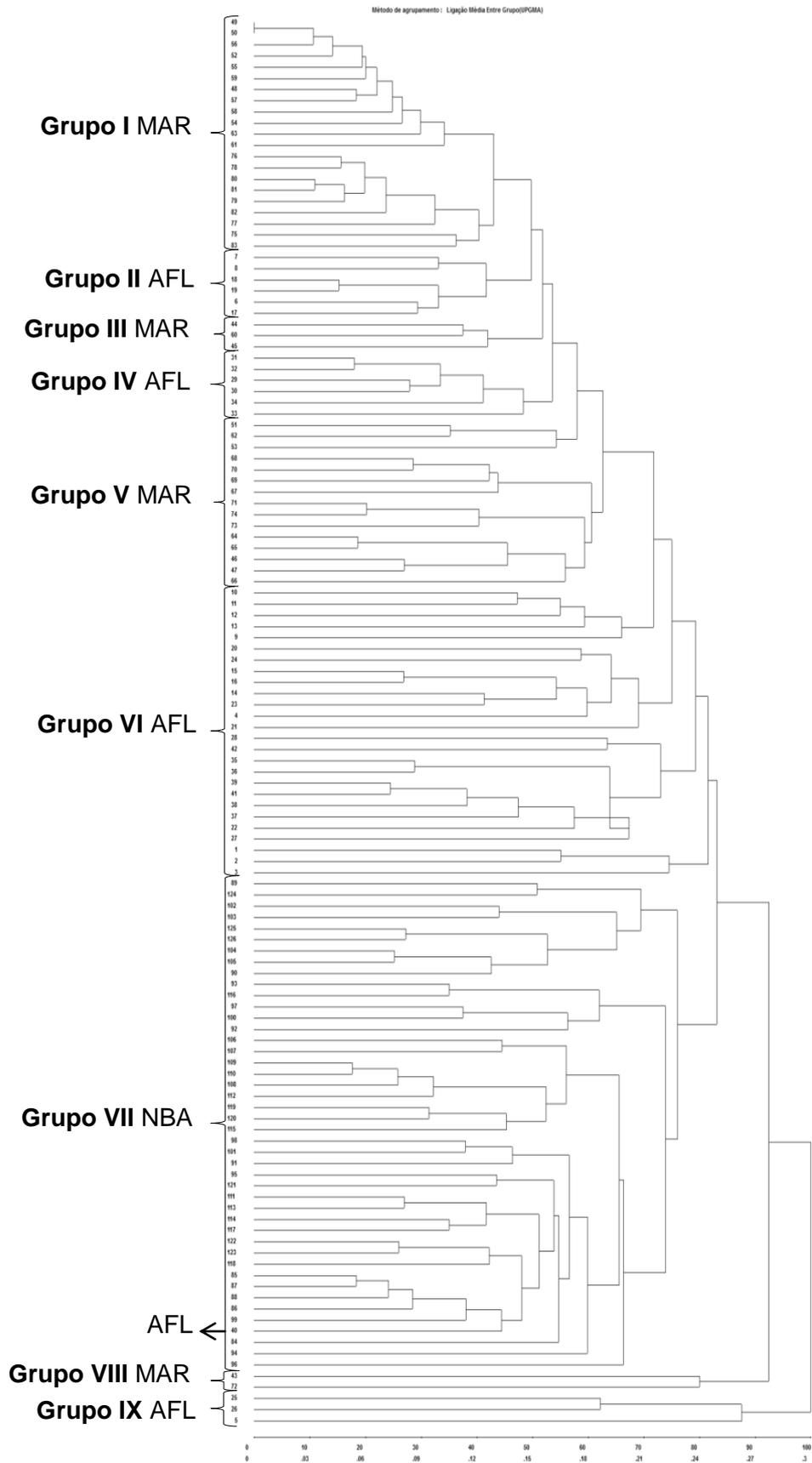


Figura 2. Dendrograma gerado a partir da distancia genética de Nei (1983), pelo método UPGMA dos indivíduos de *S. mombin* das três populações. Coeficiente de correlação cofenética (CCC=0,7600).

O programa “Structure”, baseado em estatística bayesiana, foi utilizado para inferir o número de grupos (k). Segundo Pritchard e Wen (2004) nesse programa, o número de grupos formados pode ser pré-determinado, mas são os dados que definem o K (número de grupos), cujo valor mais confiável é estimado pelo menor número com valor negativo de Ln e pelo menor desvio padrão encontrado durante a análise estatística.

O melhor k encontrado relacionando as três populações foi representado por três grupos (k=3), pôde-se verificar que os indivíduos estão claramente alocados de acordo com o local de origem (Figura 3).

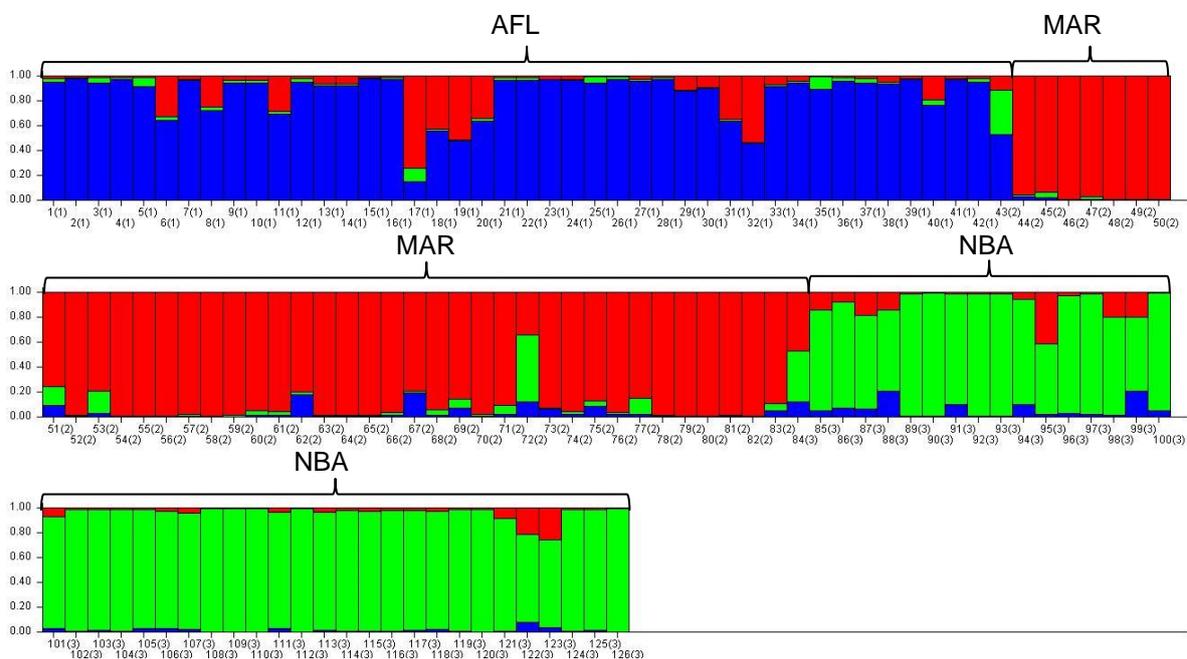


Figura 3. Representação dos 126 indivíduos de *S. mombin* das três populações estudadas: Alta Floresta (AFL), Marcelândia (MAR) e Nova Bandeirantes (NBA) – MT, em grupos segundo dados moleculares com 14 ISSRs utilizando o programa “Structure”. Os indivíduos estão representados por barras verticais com coloração de acordo com o grupo ao qual pertencem: AFL- Azul, MAR – Vermelho e NBA – Verde (três grupos, K = 3).

CONCLUSÕES

A caracterização molecular revelou que a diversidade genética é maior em nível intrapopulacional do que interpopulacional nas populações estudadas e que as populações com maior similaridade genética são o mais próximas geograficamente.

Propõe-se que sejam conservados indivíduos de ambas as populações a fim de se preservar a alta diversidade genética intrapopulacional, de modo a possibilitar a manutenção da variabilidade genética e a conservação efetiva dessas populações.

Por existir variabilidade genética em ambas as populações, e não haver indivíduos geneticamente idênticos ou muito próximos, ambas as populações podem ser fonte de genótipos para bancos de germoplasma e para um futuro programa de melhoramento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, R. M.; SEBBENN, A. M.; ARTERO, A. S.; CLEMENT, C.; FIGUEIRA, A. High levels of genetic divergence and inbreeding in populations of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) **Tree Genetics & Genomes**. 3:289–298, 2007.
- BATISTA, E. C.; TELLES, M. P. C.; RAMOS, J. R.; SOARES, T. N, DINIZ-FILHO, J. A.F.; FERREIRA, H. D. Variabilidade genética intrapopulacional utilizando marcadores ISSR em *Tibouchina papyrus*. In: **IX Simpósio Nacional Cerrado**, Brasília, 2008.
- BERTONI, B. W.; TELLES, M. P. DE C.; MALOSSO, M. G.; TORRES, S. C. Z; PEREIRA, J. O.; LOURENÇO, M. V.; FRANÇA, S. DE C.; PEREIRA, A. M. S. Genetic diversity in natural populations of *Jacaranda decurrens* Cham. determined using RAPD and AFLP markers. **Genetics and Molecular Biology**. 33: 532-538, 2010.
- BOSCO, J.; SOARES, K. T.; AGUIAR FILHO, S. P. de; BARROS, R. V. **A cultura da cajazeira**. João Pessoa: Emepa, 2000. 229 p.
- BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLMICK, H.. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisn. **American Journal of Human Genetics**, 32: 314-331, 1980.
- BOZA, E. J.; IRISH, B. M.; MEEROW, A. W.; TONDO, C. L.; RODRIGUEZ, O. A.; VENTURA-LÓPEZ, M.; GOMEZ, J. A.; MOORE, J. M.; ZHANG, D.; MOTAMAYOR, J. C.; SCHNELL, R. J. Genetic diversity, conservation, and utilization of *Theobroma cacao* L.: genetic resources in the Dominican Republic. **Genetic Resources and Crop Evolution**, 60: 605–619, 2013.
- BRANDÃO, M. M.; VIEIRA, F. A.; CARVALHO, D. Estrutura genética em microescala espacial de *Myrcia splendens* (Myrtaceae). **Revista Árvore**, 35: 957-964, 2011.
- COSTA, T. S.; SILVA, A. V. C.; LÉDO, A. S.; S, A. R. F.; SILVA JÚNIOR, J. F. Diversidade genética de acessos do banco de germoplasma de mangaba em Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 46:499-508, 2011.
- CRUZ, C. D. **Programa GENES – Aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: UFV. 2008.
- DOYLE, J. J; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, 19:11-15, 1987.
- ELLEGREN, H. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. **Nature Reviews**, 5:435-445, 2004.
- ESTOPA, R. A. **Diversidade genética em populações naturais de candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC) Mac Leish)**. Lavras: Universidade Federal de Lavras. 2003. 43p. (Monografia, curso de Ciências Florestais).

ESTOPA, R. A.; SOUZA, A. M.; MOURA, M. C. O.; BOTREL, M. C. G.; MENDONÇA, E. G.; CARVALHO, D. Diversidade genética em populações naturais de candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) Macleish). **Scientia Forestalis**, 70: 97-106, 2006.

EVANO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. **Molecular Ecology**, 4:2611–2620, 2005.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P.E.; Quattro, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, 131:479–491, 1992.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. **Arlequinver 3.01. An integrated software package for population genetics data analysis**. Computational and Molecular Population Genetics Lab (CMPG). Institute of Zoology . University of Berne, 2006.

FERREIRA, M. E.; GRATRAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1998. 220p.

GIUSTINA, L. D.; LUZ, L. N.; VIEIRA, F. S.; ROSSI, F. S.; SOARES-LOPES, C. R. A.; PEREIRA, T. N. S.; ROSSI, A. A. B. Population structure and genetic diversity in natural populations of *Theobroma speciosum* Willd. Ex Spreng (Malvaceae). **Genetics and Molecular Research**, 13:3510-3519, 2014.

HAMRICK, J. L. Gene movement in tropical tree populations tropical breeding systems: one and done. **Heredity**, 109:330–331, 2012.

HAMRICK, J. L.; GODT, M. J. W. Conservation genetics of endemic plant species. In: Avise, J. C.; Hamrick, J. L. (Eds). **Conservation Genetics, Case Histories From Nature**. p 281-304, 1996.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Principles of population genetics**. Sunderland: Sinauer Associates, 1997.

HARTL, D. L. **Princípios da genética de população**. Ribeirão Preto: FUNPEC. 2008. 217 p.

KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M.; RIBAS, L. A.; GANDARA, F. B.; CASTELLEN, M.; PERECIM, M. B.; VENCOVSKY, R. Diversidade genética em espécies tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. **Scientia Forestalis** 64: 93-107, 2003.

MEYER, A. S. **Comparação de coeficientes de similaridade usados em análises de agrupamento com dados de marcadores moleculares dominantes**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ/USP, 2002. 106p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia).

NETO, G. G.; SILVA, F. H. B. Plantas da Amazônia Mato-Grossense: o cacauí – *Theobroma speciosum* Willd. ex Spreng (Malvaceae). **Flovet**, n. 3, 2011.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, 89:583-590, 1978.

NYBON, H.; BARTISH, I. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, 3: 93-114, 2000.

OLIVEIRA, A. D.; BARBOSA, M. F. P.; PIMENTA, M. A. S.; BRAGA, R. F.; FERREIRA, M. F. M.; RODRIGUES, L. A. Variabilidade genética de populações de fava d'anta (*Dimorphandra mollis*) da região norte do Estado de Minas Gerais. **Revista Árvore**, 32:355-363, 2008.

OLIVEIRA, M. S. P.; SILVA, K. J. D. Diferenciação genética entre procedências de açazeiro por marcadores RAPD e SSR. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 30:438-443, 2008.

REZENDE, R. K.; PAIVA, L. V.; PAIVA, R.; CHALFUN-JÚNIOR, A.; TORGA, P. P. Divergência genética entre cultivares de gérbera utilizando marcadores RAPD. **Ciência Rural**, 39: 435-2440, 2009.

PAIVA, J.R. **Melhoramento genético de espécies agroindustriais na Amazônia: estratégias e novas abordagens**. Brasília: Embrapa-SPI; Fortaleza: Embrapa-CNPAT, 1998. 135p.

PESSONI, L.A. **Estratégias de avaliação da diversidade em germoplasma de caju (*Anacardium spp L.*)**. Viçosa: 2007. 159p. (Tese - Doutorado em genética e melhoramento).

PRITCHARD, J; STEPHENS, M; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics** 155:945–959, 2000.

PRITCHARD, J. K.; WEN, W. **Documentation for structure software: Version 2.1**. Disponível em: <http://pritch.bsd.uchicago.edu.>, 2004. Acesso em: 21, outubro, 2015).

RAPOSO, A. **Estrutura genética e fluxo gênico de populações naturais de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl., Meliaceae) visando o manejo e a conservação da espécie**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2007.117p. (Tese - Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).

RIVAS, L. H.; GIUSTINA, L. D.; LUZ, L. N.; KARSBURG, I. V. PEREIRA, T. N. S.; ROSSI, A. A. B. Genetic diversity in natural populations of *Theobroma subincanum* Mart. in the Brazilian Amazon. **Genetics and Molecular Research**. 12: 4998-5006, 2013.

ROCHA, A.; SALOMÃO, L.C.C.; SALOMÃO, T.M.F.; CRUZ, C.D.; SIQUEIRA, D.L. Genetic Diversity of 'Ubá' Mango Tree Using ISSR Markers. **Molecular Biotechnology**, 50:108-113, 2012.

ROSSI, F. S. **Avaliação da diversidade genética entre e dentro populações naturais de *Mauritia flexuosa* (Arecaceae) no município de Alta Floresta-MT, com marcadores de ISSR.** Alta Floresta: Universidade do Estado de Mato Grosso. 2007. 40p. (Monografia, curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas).

ROSSI, F. S.; ROSSI A. A. B.; DARDENGO J. F. E.; BRAUWERS, L. R.; SILVA, M. L.; SEBBENN, A. M. Diversidade genética em populações naturais de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) com uso de marcadores ISSR. **Scientia Forestalis**, 42:631-639, 2014.

ROSSI, A. A. B.; OLIVEIRA, L. O.; VENTURINI, B. A.; SILVA, R. S. Genetic diversity and geographic differentiation of disjunct Atlantic and Amazonian populations of *Psychotria ipecacuanha* (Rubiaceae). **Genetics**, 136: 57–67, 2009.

SACRAMENTO, C. K.; SOUZA, F. X. **Cajá (*Spondias mombin* L.).** Jaboticabal: FUNEP, 2000. 42p.

SAHYUN, S. A. **Variabilidade genética de populações de espinheira santa (*Maytenus aquifolium*) por marcadores moleculares.** Londrina. Universidade Estadual de Londrina. 2007. 89p. (Dissertação de Mestrado em Genética).

SALIMATH, S. S.; OLIVEIRA, A. C.; GODWIN, I. D.; BENNETZEN, J. L. Assessment of genome origins and genetic diversity in the genus *Eleusine* with DNA markers. **Genome**, 38: 757-763, 1995.

SANTANA, I.B.B.; OLIVEIRA, E.J.; SOARES FILHO, W.S.; RITZINGER, R.; AMORIM, E.P.; COSTA, M.A.P.C.; MOREIRA, R.F.C. Variabilidade genética entre acessos de Umu-Cajazeira mediante análise de marcadores ISSR. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 33:868-876, 2011.

SECRETARIA DE ESTADO DE PLANEJAMENTO E COORDENAÇÃO GERAL (SEPLAN). Unidades Climáticas do Estado de Mato Grosso. In: **Zoneamento Sócio Econômico Ecológico.** Cuiabá: PRODEAGRO. CD-Rom do Atlas Climatológico de Mato Grosso. Governo do Estado de Mato Grosso. Secretaria de Estado de Planejamento e Coordenação Geral. Laboratório de Climatologia. Universidade Federal do Estado de Mato Grosso, 2006.

SILVA, C. J. D. **Caracterização genética de cajazeiras *Spondias mombin* L.) (*Anacardiaceae*) por meio de marcadores moleculares.** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2009. 98p. (Dissertação- Mestrado em Melhoramento Genético de Plantas).

SILVA JUNIOR, J. F. da; BEZERRA, J. E. F.; LEDERMAN, I. E.; ALVES, M. A.; MELO NETO, M. L. de. Collecting, ex situ conservation and characterization of “caja-umbu” (*Spondias mombin* x *Spondias tuberosa*) germplasm in Pernambuco State, Brazil. **Genetic Resources and Crop Evolution**, 51:343-349, 2004.

SIMÃO, S. **Tratado de fruticultura**. Piracicaba: FEALQ, 1998. 762p.

SOUZA, F. X. **Crescimento e Desenvolvimento de Clones enxertados de Cajazeira na Chapada do Apodi, Ceará**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2005. 80 p. (Tese de Doutorado em Agronomia).

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

WRIGHT, S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. **Evolution** 19:395-420,1965.

YEH, F. C.; YANG, R. C.; BOYLE, T. POPGENE. **Microsoft Windows-based freeware for population genetic analysis**. Release 1.31. Edmonton: University of Alberta. 1999.

ZIEKIEWICZ, E.; RAFALSKI, A. A. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-Anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomics** 20:176-183, 1994.

4.2. CAPÍTULO 2

DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE GENÓTIPOS DE *Spondias mombin* L. POR MEIO DE CARACTERES MORFOLÓGICOS

RESUMO

Entre as frutíferas do gênero *Spondias* encontra-se a cajazeira (*Spondias mombin* L.), nativa da região amazônica. Sua exploração ocorre de forma extrativista, sendo ainda incipientes os cultivos da espécie. O objetivo desse estudo foi avaliar a divergência genética entre genótipos de *S. mombin* e quantificar a contribuição relativa de 12 características morfológicas de frutos e sementes, e assim, obter dados que subsidiem futuras pesquisas referentes à conservação e domesticação da espécie. Foram avaliados 60 genótipos. De cada genótipo foram analisados 10 frutos. Os descritores utilizados para a caracterização dos frutos foram (8): peso, massa da polpa, volume, comprimento, largura, espessura, teor de sólidos solúveis totais e potencial hidrogeniônico (pH); descritores das sementes (4): peso, comprimento, largura e espessura. Os dados foram avaliados através dos Componentes Principais e dos agrupamentos obtidos pelos métodos UPGMA e Tocher, a partir da matriz de dissimilaridade (distância euclidiana média) com auxílio do programa Genes. Pela análise dos componentes principais, verificou-se que os três primeiros componentes explicam 83,63% da variação acumulada. As características que mais contribuíram para a discriminação dos genótipos foram: largura do fruto, peso da polpa do fruto, pH, comprimento da semente e espessura da semente, sendo as mais responsivas para a seleção de genótipos de *S. mombin*. As menores contribuições para a diversidade foram obtidas dos caracteres: peso do fruto, largura da semente, espessura do fruto, volume do fruto, comprimento do fruto, peso da semente e teor de sólidos solúveis. Ambos os métodos de agrupamento UPGMA e Tocher revelaram que há divergência genética entre os genótipos analisados. Os genótipos 37 e 41 são mais divergentes em relação aos demais sendo indicados para cruzamentos em futuros programas de melhoramento e de conservação genética da espécie.

PALAVRAS-CHAVE: Cajá, Frutífera Amazônica, Recurso genético.

GENETIC DIVERGENCE AMONG *Spondias mombin* L. GENOTYPES USING MORPHOLOGICAL CHARACTERES

ABSTRACT

Among the *Spondias* fruit trees genre is the yellow mombin (*Spondias mombin* L.), native from the Amazon region. Their exploitation occurs by an extractive way being the species crops still incipient. The aim of this study was to evaluate the genetic divergence among the *S. mombin* genotypes and quantify the relative contribution of 12 morphological fruit and seed characteristics, and thus, obtain data that support future research relating to the species conservation and domestication. Sixty genotypes were evaluated. Ten fruits from each genotype were analyzed. To characterize the fruits, the descriptors used were (8): weight, pulp mass, volume, length, width, thickness, total soluble solids and hydrogenic potential (pH). Seed Descriptors (4): weight, length, width and thickness. The data were evaluated by the principal component and groupings obtained by the UPGMA and Tocher methods from the dissimilarity matrix (average Euclidean distance) through the Genes program. By the analysis of the principal component, three first components explained 83.63% of the accumulated variation. The characteristics that most contributed to the genotypes discrimination were: fruit width, fruit pulp weight, pH, seed length and seed thickness, being the most responsive to the *S. mombin* genotypes selection. The smallest contributions to the diversity were obtained by the characters: fruit weight, seed width, fruit thickness, fruit volume, fruit length, seed weight and soluble solids content. The UPGMA and Tocher grouping methods revealed that there is a genetic divergence between the analyzed genotypes. Genotypes 37 and 41 are more divergent than the others, being indicated for crosses in future breeding and genetic species conservation programs.

KEYWORDS: Yellow Mombin, Amazon Fruit, Genetic resource.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas frescas, ficando atrás da China e da Índia. No entanto, no que diz respeito à produção de frutas tropicais, o país ocupa a primeira colocação (Brasil, 2007).

Observa-se que há uma demanda cada vez maior no mercado internacional por frutas com novos aromas, sabores e texturas. Neste contexto, o Brasil, em função da enorme biodiversidade e condições edafoclimáticas, é um país com imenso potencial para fornecer esses recursos naturais vegetais (Schwartz et al., 2010).

Entre as frutíferas nativas, o gênero *Spondias* merece destaque com representantes como o umbuzeiro (*S. tuberosa* Arruda Câmara), umbu-cajazeira (*Spondias* sp.) e o cajá (*Spondias mombin* L.). A exploração destas fruteiras nativas do Nordeste do Brasil ainda ocorre de forma extrativista em razão da falta de conhecimento fitotécnico de quem as utiliza, sem noção do que são recursos genéticos e da importância da conservação de germoplasma (Carvalho et al., 2002). Com isso as agroindústrias ficam totalmente dependentes da produção obtida do extrativismo, que é sazonal e insuficiente para operacionalização das fábricas durante todo o ano (Martins e Melo, 2006).

O melhoramento genético de espécies frutíferas visa o atendimento de exigências do mercado consumidor, principalmente no que tange a qualidade de frutos (Braga et al., 2006). Mas para que um programa de melhoramento seja iniciado é necessário que haja variabilidade genética visando a seleção de genótipos.

Com isso, os recursos genéticos devem ser devidamente caracterizados para permitir ganhos genéticos mais promissores no melhoramento e também para potencializar o uso destes recursos pelo próprio agricultor (Coelho et al., 2007). Atualmente, a caracterização dos genótipos é feita baseando-se em marcadores morfológicos, herdáveis, facilmente visíveis e mensuráveis, que, a princípio, são expressos em todos os ambientes (IPGRI, 1996).

Os descritores morfológicos constituem uma ferramenta útil à caracterização e ao melhoramento genético pois é baseada no fenótipo, portanto, são utilizadas apenas regiões do DNA que são expressas. É uma atividade de baixo custo e de

fácil estudo, no entanto, a variabilidade conhecida é limitada e pode sofrer influência ambiental se a característica for de herança quantitativa (Vieira, 2007). Segundo Borém (2006), os descritores morfológicos têm um papel fundamental na divulgação das características agronômicas de novos materiais genéticos e podem influenciar, decisivamente, na escolha pelos produtores.

Assim, objetivou-se avaliar a divergência genética entre genótipos de *S. mombin* e quantificar a contribuição relativa de 12 características morfológicas de frutos e sementes para a obtenção de dados que sirvam de subsídio a futuras pesquisas referentes à conservação e domesticação da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

As coletas foram realizadas em três municípios localizados na região Norte do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta (09°52'32" S e 56°05'10" O), Marcelândia (11°05'22" S e 54°27'02" O) e Nova Bandeirantes (09°48'50" S e 57°51'43" O). O clima da região é o do tipo Equatorial quente e úmido, caracterizado por médias anuais de temperatura superiores a 24 °C, e pluviosidade acima de 2.500 mm. A altitude média varia de 200 a 290 m. Os solos, na sua maioria, pertencem à classe dos Latossolos, sob relevos planos e suavemente ondulados, a vegetação é caracterizada pela Savana, Floresta Ombrófila e Floresta Estacional (Seplan-MT, 2006).

Os indivíduos das três populações encontram-se distribuídos na zona rural dos municípios. As populações de Alta Floresta e Nova Bandeirantes apresentam maior quantidade de vegetação próxima aos locais de coleta se comparada à população de Marcelândia, na qual a maioria dos indivíduos encontram-se distribuídos em local de pastagem.

Material vegetal

Para estimar a divergência genética foram amostrados 60 genótipos em diferentes áreas dos municípios de Alta Floresta (indivíduos de AFL1 á AFL20), Marcelândia (indivíduos de MAR21 á MAR40), e Nova Bandeirantes (indivíduos de NBA41 á NBA60). De cada genótipo amostrado, foram coletados 10 frutos maduros, totalizando 600 frutos.

Os materiais coletados foram devidamente identificados e transportados ao Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular, Campus de Alta Floresta, Universidade do Estado de Mato Grosso, onde foram realizadas as avaliações.

Características morfológicas do fruto

Os frutos foram avaliados por meio de oito características: comprimento do fruto (CF), largura do fruto (LF), espessura do fruto (EF), ambas realizadas com o auxílio de um paquímetro digital com precisão de 0,01 mm. Com auxílio de uma balança de precisão de 0,00001g, foi obtido o peso do fruto (PF). Para obtenção do

peso da polpa do fruto (PPF), o peso do fruto foi subtraído do peso da semente (PF-PS= PPF).

O teor de sólidos solúveis (SST) foi avaliado através da leitura direta em refratômetro manual, com os dados corrigidos pela temperatura. O volume do fruto (VF) foi obtido a partir do volume de água deslocado após a imersão do fruto em proveta de 100 ml. Para obter os valores do pH, as polpas dos frutos foram extraídas e homogeneizadas e avaliadas quanto ao pH, utilizando um potenciômetro aferido para 25°C (Figura 1).

Características morfológicas da semente

As sementes foram avaliadas por meio de quatro características: comprimento da semente (CS), largura da semente (LS), espessura da semente (ES), ambas realizadas com o auxílio de um paquímetro digital com precisão de 0,01 mm. Com auxílio de uma balança de precisão de 0,00001g, foi obtido o peso da semente (PS) (Figura 1).

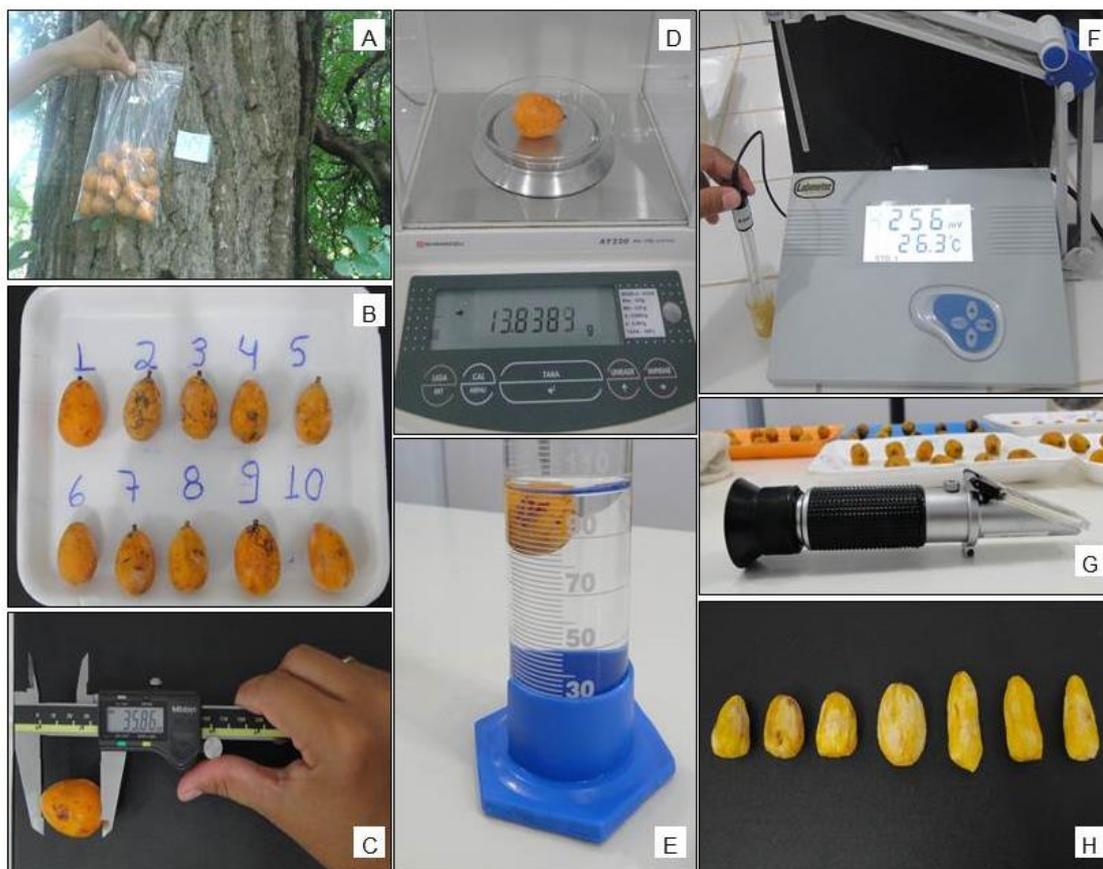


Figura 1. Avaliação dos frutos e sementes de *Spondias mombin*. Coleta (A); Frutos (B); Medição do fruto (C); Peso do Fruto (D); Volume do Fruto (E); pHgmetro (F); refratometro (G); Sementes (H).

Análise estatística

Foram realizadas análises multivariadas para a obtenção das estimativas de divergência genética dos genótipos por meio do método da distância Euclidiana Média Padronizada. A matriz de dissimilaridade gerada foi utilizada para a realização da análise de agrupamento pelos métodos UPGMA (Sneath e Sokal, 1973) e pelo método de otimização de Tocher (Rao, 1952). A validação do agrupamento pelo método UPGMA foi determinada pelo coeficiente de correlação cofenético (CCC) (Sokal e Rohlf, 1962). A análise de componentes principais (ACP) foi realizada a fim de definir as características de maior contribuição para o estudo de diversidade.

A técnica de componentes principais, a partir da matriz de correlação, consiste em transformar um conjunto de p variáveis X_1, X_2, \dots, X_p em um novo conjunto Y_1, Y_2, \dots, Y_p , em que os Y_s apresentam as seguintes propriedades:

I. Cada componente principal (Y_i) é uma combinação linear das doze variáveis padronizadas (X_j), ou seja equação 1:

$$Y_i = a_{i1}X_1 + a_{i2}X_2 + \dots + a_{ip}X_p = \sum_{j=1}^p a_{ij}X_j \quad (\text{Equação 1})$$

onde a_{ij} são os autovetores, com $i = 1, 2, \dots, p$ e $\sum_{j=1}^p a_{ij}^2 = 1$

II. O primeiro componente principal, Y_1 , é tal que sua variância é máxima entre todas as combinações lineares de X . O segundo componente principal é não-correlacionado com o primeiro e possui a segunda maior variância. Da mesma forma, definam-se os outros p componentes principais não-correlacionados entre si, ou seja equação 2:

$$\text{Var}(Y_1) \geq \text{Var}(Y_2) \geq \dots \geq \text{Var}(Y_p) \quad (\text{Equação 2})$$

III. A cada componente principal Y_i existe p autovalor ordenado de forma que equação 3:

$$\lambda_1 \geq \lambda_2 \geq \dots \geq \lambda_p \quad (\text{Equação 3})$$

IV. As combinações lineares formadas são não-correlacionadas:

$$\text{Cov}(Y_1, Y_2) = \text{Cov}(Y_1, Y_3) = \dots = \text{Cov}(Y_{p-1}, Y_p) = 0 \quad (\text{Equação 4})$$

A importância relativa de um componente principal foi avaliada pela percentagem de variância total que ele explica, ou seja, a percentagem de seu autovalor em relação ao total dos autovalores de todos os componentes que é dado por equação 5:

$$Y_i = \frac{Var(Y_i)}{\sum_{i=1}^p Var(Y_i)} \times 100 = \frac{\lambda_i}{\sum_{i=1}^p \lambda_i} \times 100 \quad (\text{Equação 5})$$

O critério para descarte de variáveis utilizado foi baseado nas recomendações de Jolliffe (1972), que sugere que o número de variáveis descartadas deve ser igual ao número de componentes principais, cuja variância (autovalor) é inferior a 0,7; e na sugestão de Khattree e Dayanand (2000), os quais consideram que a variável que apresentar o maior coeficiente em valor absoluto no componente principal de menor autovalor (menor variância) deverá ser menos importante para explicar a variância total e, portanto, passível de descarte. Assim, o processo de descarte consiste em considerar o componente correspondente ao menor autovalor e rejeitar a variável associada ao maior coeficiente de ponderação (em valor absoluto). Então, o próximo menor componente será avaliado. Esse processo continua até que o último componente associado a autovalor inferior a 0,7 seja considerado. A razão para isso é que variáveis altamente correlacionadas aos componentes principais de menor variância representam variação praticamente insignificante.

A cada descarte, o conjunto de dados foi novamente reanalisado para identificar o novo coeficiente de ponderação de maior valor no último componente principal. A eliminação de um caráter implica em novos valores para os coeficientes de ponderação dos autovetores, alterando a contribuição de cada caráter para o componente, sendo exigido a reanálise do conjunto de descritores remanescentes. Desta forma, após o descarte, uma nova matriz de dissimilaridade foi gerada para averiguação de possíveis distorções ocorridas nos agrupamentos revelados pelo método de Tocher. Para todas as análises estatísticas foi utilizado o programa GENES (Cruz, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise descritiva revelou a existência de diversidade genética entre os 60 genótipos avaliados. Ocorreu variação para os 12 descritores avaliados, o que pode ser verificado pela magnitude dos valores de amplitude (Tabela 1). A avaliação de caracteres morfológicos é importante para selecionar características agrônômicas e, nestes casos, a existência de variação indica a possibilidade de obtenção de ganhos genéticos no melhoramento.

Tabela 1. Análise descritiva apresentando as médias gerais, desvio-padrão (DP), valores de mínimo, máximo e amplitude das 12 características avaliadas nos 60 genótipos de *S. mombin*

Variáveis	Média	DP	Mínimo	Máximo	Amplitude
CF (mm)	31,85	4,10	21,11	44,66	23,55
LF (mm)	20,55	2,88	13,08	34,97	21,89
EF (mm)	21,36	2,76	14,45	29,51	15,06
VF (ml)	9,95	3,42	2,00	21,00	19,00
PF (g)	8,69	3,05	2,60	18,63	16,03
PPF (g)	6,07	2,51	0,15	15,27	15,12
SST	14,29	2,81	5,00	22,00	17,00
pH	3,86	0,17	3,42	4,30	0,88
PS (g)	2,62	1,17	0,67	6,29	5,62
CS (mm)	26,52	3,60	13,40	40,03	26,63
LS (mm)	14,15	2,17	7,12	22,25	15,13
ES (mm)	15,13	2,36	8,62	33,61	24,99

CF: comprimento do fruto (mm), LF: largura do fruto (mm), EF: espessura do fruto (mm), VF: volume do fruto, PF: peso de fruto (g), PPF: peso da polpa do fruto (g), SST: sólidos solúveis totais (°Brix), pH: potencial hidrogeniônico, PS: peso da semente (g), CS: comprimento da semente (mm), LS: largura da semente (mm) e ES; espessura da semente (mm).

Os frutos de *S. mombin* avaliados medem de 21,11 mm a 44,66 mm de comprimento com uma média de 31,85 mm, a largura variou de 13,08 mm a 34,97 mm, tendo uma média de 20,55 mm e espessura de 14,45 mm a 29,51 mm, com média de 21,36 mm, pesando em média 8,69 g (Tabela 1).

Em relação ao comprimento do fruto, os valores obtidos situaram-se próximos dos observados por Cassimiro et al. (2009), que avaliou acessos de cajazeira do Banco Ativo de Germoplasma da Emepa-PB e encontrou valores próximos a este trabalho, o qual a média geral foi igual a 34,7 mm, com valores variando de 29,5 a 42,0 mm. A média do peso do fruto igual a 8,69 foi inferior,

porém muito próxima à encontrada por Bosco et al. (2000) e Aldrigue et al. (1998), de 10 e 9,5 g, respectivamente.

A média das variáveis do volume do fruto (VF), peso da polpa do fruto (PPF), teor de sólidos solúveis (SST) e Ph foram de 9,95/ 6,07/ 14,29 e 3,86 respectivamente (Tabela 1). Quanto à massa da polpa do fruto, Pinto et al. (2003) em seus estudos, visando caracterizar frutos de genótipos de cajazeiras provenientes do Estado da Bahia, com o objetivo de identificar materiais de interesse agroindustrial e para o melhoramento da espécie, encontraram uma média de 6,11g para a massa da polpa, resultado próximo ao encontrado no presente estudo.

Os métodos de agrupamento baseiam-se, principalmente, em métodos hierárquicos e de otimização. Nos hierárquicos, o método UPGMA irá agrupar os genótipos aos pares, utilizando médias aritméticas das medidas de dissimilaridade, que evita caracterizar a dissimilaridade por valores extremos (máximo ou mínimo) entre os genótipos considerados. Neste método, o dendrograma é estabelecido pelos genótipos com maior similaridade (Cruz et al., 2003). Nos de otimização, destaca-se o algoritmo de Tocher, que baseia-se na formação de grupos cujas distâncias dentro dos grupos sejam menores que as distâncias entre grupos. Ao final do processo obtém-se o número de grupos e os acessos contidos em cada grupo. A aplicação deste método foi feita conforme sugerem Cruz e Carneiro (2003).

Com o emprego do método UPGMA, utilizando 12 características quantitativas em 60 genótipos de *S. mombin*, foi gerado o dendrograma e baseado na análise visual, foram definidos quatro grupos distintos, sendo que o ponto de corte foi estabelecido no local de ocorrência da mudança abrupta nas ramificações presentes no dendrograma (Figura 2).

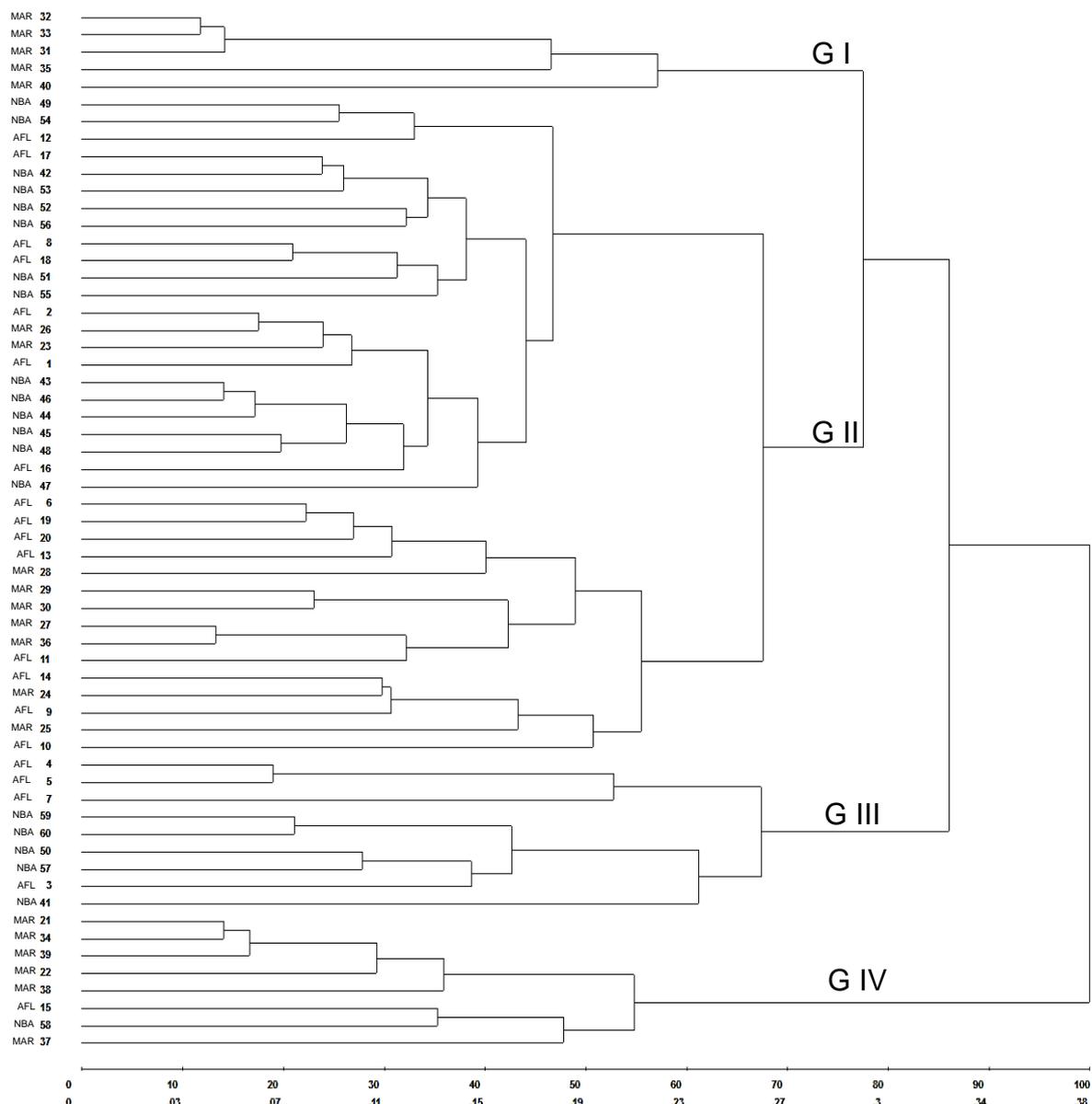


Figura 2. Dendrograma resultante da análise de 60 genótipos de *Spondia mombin* L., obtido pelo método de agrupamento UPGMA e utilizando a distância euclidiana média como medida de distância genética. Coeficiente de correlação cofenética (CCC=0,6824).

Os genótipos MAR32; MAR33; MAR31; MAR35 e MAR40 ficaram no grupo I, este grupo contém indivíduos exclusivamente da população de Marcelândia, o grupo II apresentou o maior número de genótipos, nele ficaram alocados indivíduos dos três locais de origem de Alta Floresta, Marcelândia e Nova Bandeirantes: NBA49; NBA54; AFL12; AFL17; NBA42; NBA53; NBA52; NBA56; AFL8; AFL18; NBA51; NBA55; AFL2; MAR26; MAR23; AFL1; NBA43; NBA46; NBA44; NBA45; NBA48; AFL16; NBA47; AFL6; AFL19; AFL20; AFL13; MAR28; MAR29; MAR30; MAR27;

MAR36; AFL11; AFL14; MAR24; AFL9; MAR25; e AFL10, o grupo III foi formado por genótipos de Alta Floresta e Nova Bandeirantes: AFL4; AFL5; AFL7; NBA59; NBA60; NBA57; e AFL3 e o grupo IV foi composto pela maioria dos genótipos de Marcelândia (MAR21; MAR34; MAR39; MAR22; MAR38 ; MAR37, AFL15 e NBA 58. Os genótipos do quarto grupo foram mais distantes dos outros pois se agruparam com os demais grupos em 100% de dissimilaridade.

As dissimilaridades genéticas entre os 60 genótipos de *S. mombin* variaram de 0,753 a 0,045. Verificou-se que o menor grau de dissimilaridade ocorreu entre os genótipos MAR32 e MAR33 (0,045), enquanto que os mais distantes (máxima dissimilaridade) foram AFL4 e MAR38 (0,753).

A correlação entre a matriz cofenética do agrupamento hierárquico UPGMA e a matriz de distância euclidiana média foi satisfatória (CCC = 0,6824), visto que valores superiores a 0,56 refletem boa concordância entre as matrizes (Vaz Patto et al., 2004). De acordo com Cruz e Carneiro (2003), quanto maior o valor de CCC, menor será a distorção provocada ao agrupar os indivíduos, o que normalmente é obtido pelo método da ligação média (UPGMA).

Conforme o método de otimização de Tocher, houve a formação de dez grupos, sendo que no grupo I foi formado somente por genótipos de Marcelândia: MAR32; MAR33; MAR31 e MAR35, no grupo II foram alocados 29 genótipos, o que corresponde a 48,33% dos indivíduos avaliados, o grupo III foi composto por 10 genótipos, no grupo IV ficaram alocados os indivíduos AFL4; AFL5 e AFL7 ambos da população de Alta Floresta, o quinto grupo foi formado por três genótipos de Nova Bandeirantes, o grupo VI foi composto por cinco genótipos, no grupo VII ficaram alocados os indivíduos AFL10; MAR25 e MAR24, nos grupos VIII, IX e X foi alocado somente um genótipo MAR40; NBR41 e MAR37 respectivamente (Tabela 2).

No agrupamento de Tocher é comum que nos primeiros grupos concentre um maior número de genótipos. Esse tipo de análise tem como princípio manter a homogeneidade dentro dos grupos e a heterogeneidade entre os grupos, assim sendo, o maior número de indivíduos em um determinado grupo indica que eles apresentam maior similaridade genética e os indivíduos enquadrados no último grupo apresentam maior divergência em relação àqueles que estão no primeiro grupo (Elias et al., 2007).

Além disso, esta é uma técnica de otimização que agrupa os indivíduos, mantendo o critério de que as distâncias intragrupos sejam sempre menores do que as distâncias intergrupos (Cruz et al., 2004).

Tabela 2. Agrupamento dos 60 genótipos de *Spondia mombin* L., pelo método de agrupamento de Tocher, utilizando a distância euclidiana média como medida de distância genética

Grupos	Genótipos							
I	MAR32	MAR33	MAR31	MAR35				
II	MAR27	MAR36	AFL11	AFL6	MAR28	AFL9	AFL19	AFL20
	AFL13	NBA47	AFL16	MAR30	NBA50	MAR29	AFL3	AFL2
	AFL14	MAR26	AFL1	NBA44	NBA46	NBA48	NBA43	NBA45
	MAR23	AFL17	AFL18	AFL8	NBA42			
III	MAR21	MAR34	MAR39	MAR22	MAR38	NBA58	NBA52	
	NBA56	AFL15	NBA51					
IV	AFL4	AFL5	AFL7					
V	NBA59	NBA60	NBA57					
VI	NBA49	NBA54	AFL12	NBA53	NBA55			
VII	AFL10	MAR25	MAR24					
VII	MAR40							
IX	NBA41							
X	MAR37							

A análise de componentes principais revelou que os três primeiros componentes absorveram 83,63% do total da variação, sendo que o primeiro componente explicou 58,90% e o segundo componente 74,93% da variação total (Tabela 3), sendo os primeiros componentes associados aos maiores autovalores, retendo assim, maior variância dos dados, o que garante a representatividade desses componentes quanto ao conjunto das variáveis avaliadas (Castellen et al., 2007).

Os resultados foram semelhantes aos encontrados por Pinto et al. (2003) ao avaliarem genótipos de cajazeira, onde os dois primeiros componentes principais explicaram 80,92% da variação total.

De acordo com os resultados obtidos para os componentes principais, seus respectivos autovalores e porcentagem de variância explicada por cada um dos 12 componentes principais, oito apresentaram variância inferior a 0,7 (autovalor inferior a 0,7), os quais de acordo com o critério de Jolliffe (1972) podem ser descartados.

Tabela 3. Estimativas dos autovalores associados aos componentes principais, juntamente com sua importância relativa (Raiz %) e acumulada (%), referentes a 12 características morfológicas de *S. Mombin*

CP ¹	Autovalor	Importância Relativa (%)	(%) Acumulada
CP ₁	7,07	58,90	58,90
CP ₂	1,92	16,03	74,93
CP ₃	1,04	8,70	83,63
CP ₄	0,83	6,88	90,51
CP ₅	0,60	5,03	95,54
CP ₆	0,34	2,86	98,40
CP ₇	0,09	0,76	99,16
CP ₈	0,04	0,33	99,50
CP ₉	0,03	0,24	99,74
CP ₁₀	0,02	0,15	99,89
CP ₁₁	0,01	0,11	100,00
CP ₁₂	0,00	0,00	100,00

¹Cada componente principal é uma combinação linear das dezoito variáveis padronizadas.

Foram mantidos apenas os quatro primeiros componentes que enquadraram-se dentro do critério de seleção adotado, pois apresentaram autovalor superior a 0,7 e conseguiram explicar 90,51% da variação total.

As sete variáveis que apresentaram maiores coeficientes de ponderação em valor absoluto a partir do último componente principal, foram passíveis de descarte (Tabela 4).

De acordo com Alves et al. (2003), o interesse na avaliação da importância relativa dos caracteres reside na possibilidade de se descartarem características que pouco contribuem para a discriminação do material avaliado, reduzindo, dessa forma, mão de obra, tempo e custo despendidos na experimentação. Segundo Rosse e Fernandes. (2002), esse critério é mais eficiente na identificação das características menos informativas quando se considera um conjunto de no mínimo dez características.

As variáveis sugeridas para descarte (Tabela 4), em ordem de menor importância para explicar a variação total, neste estudo, foram: peso do fruto (PF), largura da semente (LS), espessura do fruto (EF), volume do fruto (VL), comprimento do fruto (CF), peso da semente (PS) e teor de sólidos solúveis (SST), pois quanto menor o autovalor de um componente principal e maior coeficiente de ponderação menor a sua importância e a variável importante nele representará pouca significância no bloco de dados. A variável peso do fruto (PF), apesar de ter sido inserida na listagem para descarte, merece atenção, pois essa característica traz

informações importantes no processo de seleção de genótipos de cajazeiras, havendo necessidade de associá-lo a outros atributos, como rendimento de polpa.

Os resultados do presente estudo sugerem as seguintes variáveis para serem mantidas: largura do fruto (LF), peso da polpa do fruto (PPF), pH, comprimento da semente (CS) e espessura da semente (ES), podendo ser utilizadas em trabalhos que terão como objetivo seleção de genótipos para compor programas de melhoramento, conservação das espécies e identificar genótipos contrastantes a fim de realizar cruzamentos promissores.

O pH é uma variável de grande influência na qualidade e segurança dos alimentos. De um modo geral, fornece uma indicação do seu potencial de deterioração, atestado pela acidez desenvolvida (Gava, 1999).

Na produção de frutos destinados à indústria de sucos, deve-se enfatizar os frutos que conferem alto rendimento de polpa, teor elevado de açúcares e acidez, sendo a falta de tecnologia de produção um dos principais obstáculos à exploração comercial (Pinto et al., 2003).

Tabela 4. Conjunto dos autovetores (coeficiente de ponderação) explicadas pelos componentes principais (CP_i) das 12 variáveis analisadas em *S. Mombin*

Cp _i	Elementos dos autovetores associados											
	CF	LF	EF	VL	PF	PPF	SST	pH	PS	CS	LS	ES
CP ₁	0,31	0,34	0,35	0,34	0,36	0,30	-0,22	0,11	0,29	0,27	0,26	0,24
CP ₂	-0,33	0,04	0,00	-0,23	-0,20	-0,39	-0,21	0,12	0,29	-0,13	0,48	0,51
CP ₃	0,13	-0,21	-0,22	-0,07	0,01	-0,06	-0,36	0,81	0,14	0,12	-0,18	-0,19
CP ₄	0,32	-0,34	-0,31	-0,13	-0,07	-0,17	-0,02	-0,34	0,17	0,69	0,08	0,09
CP ₅	0,04	0,06	0,00	-0,12	0,00	0,06	0,81	0,44	-0,11	0,23	0,18	0,20
CP ₆	-0,03	-0,01	0,01	0,29	0,05	-0,31	0,34	-0,05	0,76	-0,16	-0,19	-0,23
CP ₇ *	-0,15	-0,50	-0,35	0,60	0,13	0,21	0,03	0,02	-0,09	-0,18	0,08	0,37
CP ₈	-0,59	-0,24	0,06	-0,34	0,42	0,40	0,01	-0,06	0,24	0,19	0,07	-0,19
CP ₉	0,41	-0,30	0,17	-0,44	0,19	0,15	0,05	-0,05	0,17	-0,37	-0,32	0,43
CP ₁₀	-0,22	-0,36	0,70	0,20	-0,21	-0,20	-0,03	0,08	-0,12	0,29	-0,29	0,14
CP ₁₁	-0,30	0,44	-0,29	0,01	0,03	0,02	-0,03	-0,02	0,04	0,23	-0,63	0,43
CP ₁₂	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,74	0,60	0,00	0,00	0,30	0,00	0,00	0,00

CF: comprimento do fruto (mm), LF: largura do fruto (mm), EF: espessura do fruto (mm), VF: volume do fruto, PF: peso de fruto (g), PPF: peso da polpa do fruto (g), SST: sólidos solúveis totais (°Brix), pH: potencial hidrogeniônico, PS: peso da semente (g), CS: comprimento da semente (mm), LS: largura da semente (mm) e ES; espessura da semente (mm). *No sétimo componente principal, não houve sugestão para descarte, uma vez que o maior coeficiente foi de uma característica passível de descarte no nono componente.

Os métodos de análise de agrupamento de Tocher e de componentes principais mostraram concordância na determinação de similaridade entre genótipos, com a formação de dez grupos distintos. Quando se compara os escores dos componentes principais aos agrupamentos revelados pelo algoritmo de Tocher, visualizados na Figura 3, nota-se certa concordância entre as análises, pois, a discriminação dos grupos foi semelhante.

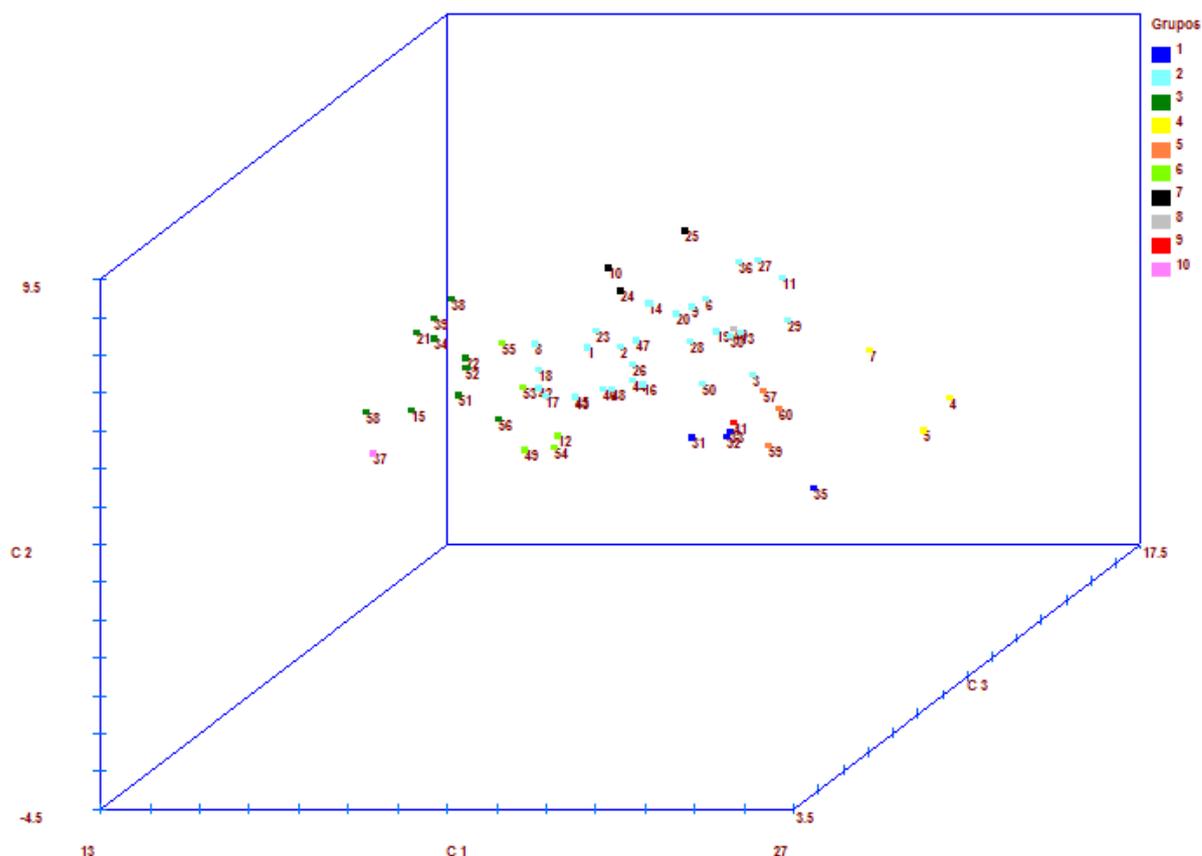


Figura 3. Dispersão gráfica formada pelos componentes principais 1, 2 e 3, representando a distribuição dos 30 genótipos de cajazeira, em relação à 12 variáveis analisadas.

A análise de componentes principais permitiu identificar as variáveis redundantes, ou seja, que pouco influenciaram na discriminação dos genótipos. O descarte de variáveis redundantes permite a otimização do conjunto original, com isso após o descarte, o conjunto de dados foi reanalisado, verificando-se possíveis diferenças nos agrupamentos.

A absorção encontrada nos três primeiros componentes principais não apresentou mudanças significativas, obtendo-se 87,08% da variação total após o descarte das sete variáveis.

O método de Tocher promoveu a redução de 10 para 7 agrupamentos (Tabela 5), e as nuvens de pontos mostraram-se mais concentradas e permitiram melhor visualização dos grupos (Figura 4).

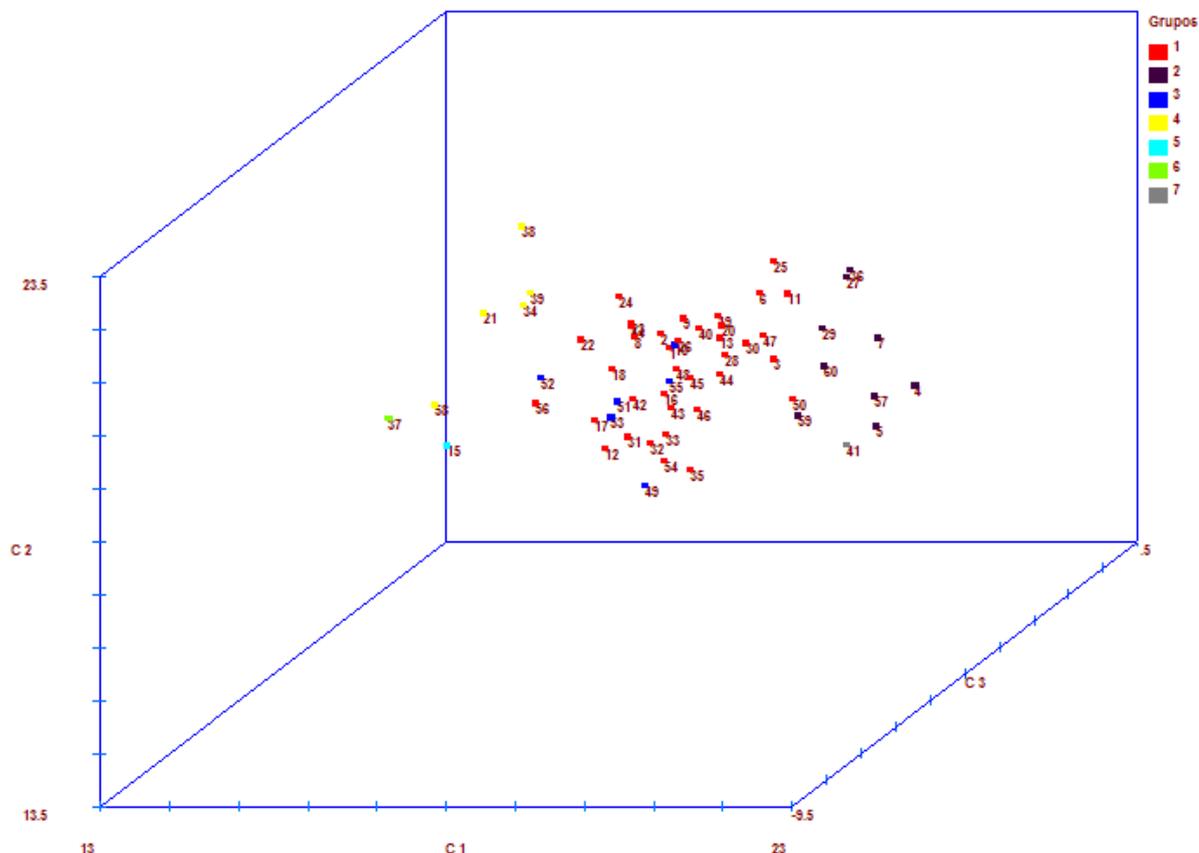


Figura 4. Dispersão gráfica formada pelos componentes principais 1, 2 e 3, representando a distribuição dos 30 genótipos de cajazeira, em relação à 5 variáveis analisadas.

Após descarte das variáveis, 95% dos genótipos estiveram concentrados nos IV primeiros grupos da análise de Tocher, diferindo da análise anterior que no IV concentrou 76% dos indivíduos.

Nos agrupamentos VI e VII são encontrados os mesmos genótipos isolados presentes nos grupos IX e X da análise anterior, com a totalidade de descritores e que não migraram para os principais grupos. Estes genótipos se destacam por integrar os últimos grupos nas análises, com e sem descartes.

Tabela 5. Agrupamento dos 60 genótipos de *Spondia mombin* L., pelo método de agrupamento de Tocher, utilizando a distância euclidiana média como medida de distância genética

Grupos	Genótipos							
I	MAR32	MAR33	MAR31	MAR35	NBA48	NBA44	AFL16	
	MAR26	NBA45	NBA46	NBA43	AFL2	AFL9	AFL19	MAR23
	MAR30	NBA42	AFL18	AFL14	AFL1	MAR28	AFL8	AFL17
	NBA47	AFL6	AFL13	AFL20	AFL11	AFL3	MAR24	22
	MAR40	MAR25	AFL12	NBA54	NBA56	NBA50		
II	MAR27	MAR36	MAR29	AFL7	NBA57	NBA60	NBA59	AFL4
	AFL5							
III	NBA51	NBA53	NBA52	NBA55	AFL10	NBA49		
IV	MAR34	MAR39	MAR21	MAR38	NBA58			
V	AFL15							
VI	MAR37							
VII	NBA41							

Os indivíduos MAR37 e NBA41 foram diferentes dos demais tanto nas análises com e sem descartes, quanto pelo método UPMGA apresentando maior divergência em relação aos demais.

CONCLUSÕES

Os caracteres de maior contribuição para a variabilidade genética dos genótipos estudados são: largura do fruto (LF), peso da polpa do fruto (PPF), pH, largura da semente (LS) e peso da semente (PS). Portanto, estes caracteres são considerados os mais responsivos para a seleção de genótipos da espécie em estudo.

Há uma grande divergência genética entre os genótipos analisados, e os indivíduos MAR37 e NBA41 são os mais indicados para cruzamentos em futuros programas de melhoramento e de conservação genética da espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, R. M.; GARCIA, A. A. F.; CRUZ, A. D.; FIGUEIRA, A. Seleção de descritores botânico-agronômicos para caracterização de germoplasma de cupuaçuzeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 38:807-818, 2003.
- BORÉM, A. **Aplicação dos marcadores moleculares no melhoramento de plantas**. In: Borém A & Caixeta ET (Eds.) Marcadores Moleculares. Viçosa: UFV, 2006. p.79-84.
- BOSCO, J.; SOARES, K. T.; AGUIAR FILHO, S. P. de; BARROS, R. V. **A cultura da cajazeira**. João Pessoa: Emepa, 2000. 229 p.
- BRAGA, F. M.; SANTOS, E. C. dos; JUNQUEIRA, N. T. V.; SOUSA, A. A. T. C. de; FALEIRO, F. G.; REZENDE, L. N.; JUNQUEIRA, K. P. Enraizamento de estacas de três espécies silvestres de *Passiflora*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, 28: 284-288, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cadeia produtiva de Frutas**. [S.1.]:IICA: MAPA/SPA, 2007. Disponível em: <http://www.ibraf.org.br/x_files/Documentos/Cadeia_Produtiva_de_Frutas_S%C3%A9rie_Agroneg%C3%B3cios_MAPA.pdf>. Acesso em: 25 nov. 2015.
- CARVALHO, P. C. L.; SOARES, F.; WALTER, S.; RITZINGER, R.; CARVALHO, J. A. Conservação de germoplasma de fruteiras tropicais com a participação do agricultor. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, 24:277-281, 2002.
- CASSIMIRO, C. M.; MACÊDO, L. S.; MENINO, I. B. Avaliação de acessos de cajazeira (*Spondias mombin*) do Banco Ativo de Germoplasma da Emepa, PB. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, 3:01-06, 2009.
- CASTELLEN, M. da S.; LEDO, C. A. da S.; OLIVEIRA, E. J. de; MONTEIRO FILHO, L. S.; DANTA, J. L. L. Caracterização de acessos do banco ativo de germoplasma de mamão por meio de análise multivariada. **Magistra**, 19:299-303, 2007.
- COELHO, C. M. M.; COIMBRA, J. L. M.; SOUZA, C. A.; BOGO, A.; GUIDOLIN, A. F. Diversidade genética em acessos de feijão (*Phaseolus vulgaris*L.). **Ciência Rural**, 37:1241-1247, 2007.
- CRUZ, C. D. **Programa GENES – Aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: UFV. 2008.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2004. 3ª ed, 480p
- CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, 2003, v.2. 585p.

ELIAS, H. T.; VIDIGAL, M. C. G.; GONELA, A.; VOGT, G. A. Variabilidade genética em germoplasma tradicional de feijão preto em Santa Catarina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 42:1443-1449, 2007.

GAVA, A. J. **Princípios de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Nobel, 1999. 284p.

IPGRI-International Plant Genetic Resources Institute. **Descriptors for banana (*Musa spp.*)**. Roma: IPGRI, 1996, 55p.

JOLLIFFE, I.T. Discarding variables in a principal component analysis. I: Artificial data. **Applied Statistics**, 21:60-173, 1972.

KHATTREE, R.; DAYANAND, N. N. **Multivariate data reduction and discrimination with SAS software**, Cary, NC: SAS Institute Inc., 2000.

MARTINS, S. T.; MELO, B. **Característica do cajá**. Toda Fruta, 04 jan. 2006. Disponível em: <http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp> Acesso em: 20 nov. 2015.

PINTO, W. da S.; DANTAS, A.C.V. L.; FONSECA, A.A O.; LEDO, C.A. da S.L.; JESUS, S.C. de; CALAFRANGE, P.L.P.; ANDRADE, E.M. Caracterização física, físico-química e química de frutos de genótipos de cajazeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 38:1059- 1066, 2003.

RAO, C.R. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York, John Wiley & Sons, p. 390, 1952.

ROSSE, L. N.; FERNANDES, J. S. C. Escolha de caracteres para o melhoramento genético em erva-mate por meio de técnicas multivariadas. **Ciência Florestal**, 12:21-27, 2002.

SCHWARTZ, E.; FACHINELLO, J. C.; BARBIERI, R. L.; SILVA, J. B. Avaliação de populações de *Butia Capitata* de Santa Vitória do Palmar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 32:736-745, 2010.

SECRETARIA DE ESTADO DE PLANEJAMENTO E COORDENAÇÃO GERAL (SEPLAN). Unidades Climáticas do Estado de Mato Grosso. In: **Zoneamento Sócio Econômico Ecológico**. Cuiabá: PRODEAGRO. CD-Rom do Atlas Climatológico de Mato Grosso. Governo do Estado de Mato Grosso. Secretaria de Estado de Planejamento e Coordenação Geral. Laboratório de Climatologia. Universidade Federal do Estado de Mato Grosso, 2006.

SNEATH, P. H.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification**. San Francisco, W.H. Freeman. 1973, 573p.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, 11:33-40, 1962.

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

VIEIRA, J. **Caracterização morfológica e molecular do banco de germoplasma de arroz irrigado (*Oryza sativa* L.) da EPAGRI**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2007. 115p. (Dissertação – Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais).

5. CONCLUSÕES GERAIS

A caracterização molecular com base em marcadores ISSR e caracteres morfológicos foram eficientes no estudo da variabilidade genética dos genótipos de *S. mombin*, com contribuição importante na estimativa da diversidade. A avaliação da diversidade genética desses genótipos em populações naturais contribuirá para a elaboração de ações que visem a conservação e a utilização sustentável deste recurso genético.

Existe variabilidade genética nas três populações em estudo, sendo esta, maior a nível intrapopulacional do que interpopulacional, o que pode estar correlacionado com o sistema de reprodução da espécie.

As características morfológicas de maior contribuição para a variabilidade genética dos genótipos de *S. mombin* foram: largura do fruto, peso da polpa do fruto, pH, comprimento da semente e espessura da semente. Estes caracteres podem ser utilizados em trabalhos que terão como objetivo seleção de genótipos para compor programas de melhoramento, conservação da espécie e identificar genótipos contrastantes a fim de realizar cruzamentos promissores.

Portanto, tais estudos são de extrema importância para a conservação, caracterização e prospecção da espécie, uma vez que a *S. mombin* é uma espécie ainda não domesticada, promissora para o melhoramento e muito utilizada pela população brasileira.