

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA TROPICAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CURSO DE MESTRADO**

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE ACESSOS DE UMBU-CAJAZEIRA
MEDIANTE ANÁLISE MULTIVARIADA UTILIZANDO MARCADORES
MORFOAGRONÔMICOS E MOLECULARES**

IVONILDA BARBOSA BRITO SANTANA

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
ABRIL - 2010**

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE ACESSOS DE UMBU-CAJAZEIRA
MEDIANTE ANÁLISE MULTIVARIADA UTILIZANDO MARCADORES
MORFOAGRONÔMICOS E MOLECULARES**

IVONILDA BARBOSA BRITO SANTANA

Farmacêutica
Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, 1983
Engenheira Agrônoma
Escola de Agronomia da Universidade Federal da Bahia, 1987

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa
de Pós-Graduação em Recursos Genéticos
Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo
da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura
Tropical, como requisito parcial para obtenção do
Grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa

Co-orientador: Dr. Walter dos Santos Soares Filho

Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo Franco Cunha Moreira

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA TROPICAL
MESTRADO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CRUZ DAS ALMAS - BAHIA - 2010

FICHA CATALOGRÁFICA

S238

Santana, Ivonilda Barbosa Brito

Divergência genética entre acessos de umbu-cajazeira mediante análise multivariada utilizando marcadores morfoagronômicos e moleculares. / Ivonilda Barbosa Brito Santana. – Cruz das Almas, BA, 2010.

f. 85.; il.

Orientadora: Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa
Co-orientadores: Walter dos Santos Soares Filho; Ricardo Franco Cunha Moreira

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Área de Concentração: Melhoramento e Biotecnologia Vegetal.

1. Umbu-cajazeira. I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias e Tecnológicas. II. Título.

CDD 634.304

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA TROPICAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CURSO DE MESTRADO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
IVONILDA BARBOSA BRITO SANTANA**

Prof^a. Dr^a. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
(Orientadora)

Dr. Rogério Ritzinger
Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical

Dr. Weliton Antônio Bastos de Almeida
Faculdade Maria Milza - FAMAM

Dissertação homologada pelo Colegiado do Curso de Mestrado em Recursos
Genéticos Vegetais em ____/____/____
Conferindo o Grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais em
____/____/____

Ao meu esposo

José Raimundo e à minha filha

Ana Luísa

Dedico

Aos meus pais, Roque (*in memoriam*) e Lusía,
aos meus irmãos, Ivan Carlos, Ivonete e Itamar,
ao meu tio-padrinho, José (*in memoriam*) e
aos meus sogros, Francisco (*in memoriam*) e Antônia

Ofereço

AGRADECIMENTOS

Existem na vida situações que pedem dedicação, decisão, posição, participação, e outras pedem apenas que se faça parte delas, que sintamos e vivamos emoções. Compartilhar emoções com pessoas que amamos, faz com que nossa dedicação seja insuperável, nossas decisões acertadas, nossas posições verdadeiras e nossa participação seja sempre fundamental e necessária.

Agradeço aqui de forma especial...

A Deus, pela fé e força de vontade necessárias para que esse sonho se tornasse real.

Aos meus familiares, por me oferecerem tanto amor, carinho, compreensão, incentivo, paciência, confiança, dedicação, alegria, conforto e tantas outras coisas que foram e serão imprescindíveis em qualquer desafio a que eu venha enfrentar.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e à Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical pela oportunidade de realização deste curso.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais e aos professores pelos ensinamentos e experiências transmitidos no decorrer do curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos.

À Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola S/A (EBDA), principalmente aos extensionistas e técnicos dos escritórios de Itaberaba, Tanquinho de Feira, Cabaceiras do Paraguaçu e Castro Alves, pelo apoio logístico nas coletas de frutos.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa, pela confiança e apoio sempre depositados, bem como pela presença amiga, e, acima de tudo, por desempenhar com precisão o papel de orientadora.

Ao Dr. Walter dos Santos Soares Filho, co-orientador e amigo, pela orientação, paciência, apoio e perseverança, durante todo o transcorrer deste trabalho, especialmente, pelo exemplo de profissionalismo e retidão pessoal, sempre notável, muito obrigada.

Ao Prof. Dr. Ricardo Franco Cunha Moreira, como co-orientador, pela ajuda, críticas e sugestões, que auxiliaram na construção do trabalho.

Ao Dr. Rogério Ritzinger, pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, pelas orientações recebidas e amizade.

Ao Dr. Eder Jorge de Oliveira, pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, pela orientação nos trabalhos com os marcadores moleculares ISSR, de valiosa contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo e ao Dr. Edson Perito Amorim, pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, pela realização das análises estatísticas dos dados.

Ao Cláudio José Dias Silva, extensionista rural do Instituto Agrônomo de Pernambuco, pelas sugestões durante a extração de DNA.

À Prof^a. Dr^a. Claudia Bloisi Vaz Sampaio, pelo projeto de geoprocessamento e elaboração dos mapas com locais de prospecção dos acessos de umbu-cajazeira.

Aos membros da banca examinadora, pelas sugestões para aperfeiçoamento deste trabalho.

Aos meus colegas de mestrado Rosa Karla, Livia, Edneide, Laurenice e Crispiniano, por terem proporcionado momentos de aprendizado e descontração, os quais levarei sempre comigo, eternamente grata.

Aos profissionais dos Laboratórios de Virologia e Biologia Molecular, de Tecnologia de Alimentos e de Fisiologia e Pós-colheita da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, principalmente aos técnicos Epaminondas Patrocínio, Pedro Lucena, Tatiane da Silva Amorim e as analistas Elaine Souza e Mabel Ribeiro Sousa, pela disposição e orientação na condução dos ensinamentos práticos, e aos estagiários Elaine Cruz, Liliane Luquine e Lucas Ferraz, pela valiosa colaboração durante as análises.

A todos o meu profundo reconhecimento,

Ivonilda Santana

*"Se enxerguei mais longe
foi porque me apoiei sobre os
ombros de gigantes."*

Isaac Newton

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO	12
 Capítulo 1	
VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE ACESSOS DE UMBU- CAJAZEIRA MEDIANTE ANÁLISE DE MARCADORES ISSR.....	36
 Capítulo 2	
ANÁLISE SIMULTÂNEA DE CARACTERES QUANTITATIVOS E QUALITATIVOS EM ACESSOS DE UMBU-CAJAZEIRA.....	55
 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	84

DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE ACESSOS DE UMBU-CAJAZEIRA MEDIANTE ANÁLISE MULTIVARIADA UTILIZANDO MARCADORES MORFOAGRONÔMICOS E MOLECULARES

Autora: Ivonilda Barbosa Brito Santana

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa

Co-orientador: Dr. Walter dos Santos Soares Filho

Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo Franco Cunha Moreira

RESUMO: Atualmente, o conhecimento disponível da variabilidade genética da umbu-cajazeira (*Spondias* sp.) é pequeno, requerendo esforços para ampliá-lo, de forma que se possa atingir um melhor aproveitamento do potencial de exploração econômica da cultura. Objetivou-se com este estudo avaliar a divergência entre acessos de umbu-cajazeira por meio de marcadores moleculares ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) e promover a análise simultânea de caracteres quantitativos (agronômicos) e qualitativos (morfológicos e moleculares). Para a caracterização molecular utilizou-se 17 acessos de umbu-cajazeira do Banco Ativo de Germoplasma de Fruteiras Tropicais da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical (BAG Fruteiras Tropicais), localizado em Cruz das Almas-BA. Os 25 *primers* de ISSR usados foram bastante polimórficos, obtendo-se em média oito bandas polimórficas por iniciador. Ampla variabilidade genética foi detectada entre os acessos, com a formação de cinco agrupamentos de diversidade genética. Foi identificado um único grupo de divergência utilizando o algoritmo de Gower para análise conjunta dos caracteres quantitativos e qualitativos em oito plantas matrizes de umbu-cajazeira representantes dos seguintes acessos: 'Aurora', 'Esperança', 'Favo de Mel', 'Preciosa', 'Princesa', 'Santa Bárbara', 'Suprema' e 'Tendas', embora considerável variabilidade genética seja observada no grupo. A técnica de marcadores ISSR foi eficiente em detectar a variabilidade genética entre os acessos de umbu-cajazeira e as análises conjuntas dos caracteres morfoagronômicos e moleculares, por meio do algoritmo de Gower, podem contribuir para um melhor esclarecimento na definição de estratégias a serem utilizadas em programas de melhoramento genético desta fruteira.

Palavras-chave: *Spondias* sp., variabilidade genética, conservação *in situ* e *ex situ*, algoritmo de Gower.

GENETIC DIVERGENCE AMONG ACCESSIONS OF UMBU-CAJAZEIRA BY MULTIVARIATE ANALYSIS USING MORPHO-AGRONOMIC TRAITS AND MOLECULAR MARKERS

Author: Ivonilda Barbosa Brito Santana

Adviser: DSc. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa

Co-adviser: DSc. Walter dos Santos Soares Filho

Co-adviser: DSc. Ricardo Franco Cunha Moreira

ABSTRACT: Currently, the available knowledge of the genetic variability of the umbu-cajazeira (*Spondias* sp.) is small, demanding efforts to increase it, so that a better use of the potential of economical exploration of the culture can be achieved. This study aimed to evaluate the divergence among umbu-cajazeira accessions through ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) molecular markers and to promote the simultaneous analysis of quantitative (agronomic) and qualitative (morphologic and molecular) traits. For the molecular characterization, 17 accessions of umbu-cajazeira of the Active Germplasm Bank of Tropical Fruits of Embrapa & Tropical Fruit (AGB Tropical Fruits), located in Cruz das Almas-BA, were used. The 25 ISSR primers used were polymorphic, being obtained eight polymorphic bands per initiator on average. Wide genetic variability was detected among accessions, with the formation of five groups of genetic diversity. One divergence group was identified using the algorithm of Gower for joint analysis of the quantitative and qualitative traits in eight original plants of umbu-cajazeira representing the following accessions: 'Aurora', 'Esperança', 'Favo de Mel', 'Preciosa', 'Princesa', 'Santa Bárbara', 'Suprema' and 'Tendas', although considerable genetic variability is observed in the group. The ISSR markers were efficient in detecting the genetic variability among the umbu-cajazeira accessions and the joint analysis of the morpho-agronomic traits and molecular markers, through the algorithm of Gower, can contribute to a better explanation in the definition of strategies to be used in breeding programs with this fruit crop.

Key-words: *Spondias* sp., genetic variability, conservation *in situ* and *ex situ*, algorithm of Gower.

INTRODUÇÃO

IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA FRUTICULTURA

O potencial atual do mercado mundial de frutas é superior a US\$ 68 bilhões/ano. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas frescas, depois da China e da Índia, segundo dados disponíveis da FAO (2008), com produção superior a 43 milhões de toneladas, numa área de 2.260 milhões de hectares, tendo exportado em 2008 aproximadamente 889 mil toneladas, o que gerou divisas da ordem de US\$ 724 milhões (ALICEweb, 2008).

Em decorrência da grande diversidade climática, o Brasil produz frutas tropicais, subtropicais e de clima temperado, em períodos diferentes dos dos principais países produtores, fundamental vantagem competitiva do segmento. O grande destaque da fruticultura brasileira é a laranja [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], (principalmente o suco da fruta, sendo o País o maior produtor e exportador mundial), seguida da uva (*Vitis* L.), melão (*Cucumis melo* L.), manga (*Mangifera indica* L.), banana (*Musa* spp.), limão [principalmente lima ácida 'Tahiti' *C. latifolia* (Yu. Tanaka) Tanaka], maçã (*Malus domestica* Borkhausen), mamão (*Carica papaya* L.), melancia (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai), abacaxi (*Ananas comosus* L.), tangerina [diversas espécies, principalmente *C. reticulata* Blanco e tangor 'Murcot' (híbrido de origem desconhecida, possivelmente resultante de cruzamento entre tangerineira e laranjeira doce *C. sinensis*)], figo (*Ficus carica* L.), abacate (*Persea americana* Mill.), framboesa (*Rubus idaeus* L.), goiaba (*Psidium guajava* L.), coco verde (*Cocos nucifera* L.), destacando-se, também, as frutas nativas da Amazônia, como açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), buriti (*Mauritia flexuosa* L.), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* L.), camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh], tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart.), bacuri (*Platonia insignis* Mart.) entre outras (IBRAF, 2008). Diante disso e em virtude da grande diversidade de frutas e regiões produtoras, essa atividade tem se destacado como uma das mais importantes da economia nacional, sendo

responsável pela geração de milhares de empregos no campo e divisas para o País (OLIVEIRA, 2009).

A exploração de fruteiras nativas no Nordeste do Brasil, dentre as quais se destaca a umbu-cajazeira (*Spondias* sp.), ocorre na maioria das vezes de forma extrativista, em razão da falta de conhecimento de quem as utiliza, pois muitos não têm noção do que são recursos genéticos e da importância da conservação de germoplasma (CARVALHO et al., 2002).

A Bahia destaca-se como segundo produtor nacional de frutas, ocupando a primeira posição no ranking nacional dos estados exportadores de frutas frescas. Em 2008, o estado exportou mais de 130 mil toneladas, gerando uma receita de US\$ 156 milhões, sendo destaque na produção de manga, mamão, coco verde, banana, uva e laranja (ALICEweb, 2008).

TAXONOMIA

A família da umbu-cajazeira, Anacardiaceae Lindl., inclui mais de 700 espécies, pertencentes a 82 gêneros; possui distribuição pantropical. Alguns gêneros, no entanto, estendem-se para a zona temperada. Os membros da família são cultivados em todo o mundo por seus frutos comestíveis e sementes, compostos medicinais, madeira valiosa e apelo paisagístico. Alguns dos produtos de Anacardiaceae, incluindo a manga, pistácio (*Pistacia vera* L.), caju (*Anacardium occidentale* L.) e pimenta rosa (*Schinus terebinthifolia* L.), são apreciados em todo o mundo, enquanto outros, notáveis por seu sabor único, a exemplo dos frutos tropicais de diversas *Spondias* L., da marula da África [*Marula* (A. Rich.) Hochst.] e da *Tapirira guianensis* Aubl., esta uma fruta neotropical, estão restritos ao cultivo e consumo localizados, não sendo, geralmente, transportados a longas distâncias para os mercados maiores (PELL, 2004).

Anacardiaceae inclui principalmente árvores, arbustos e lianas (plantas trepadeiras do tipo cipó), com canais de resina e seiva leitosa. As folhas geralmente são alternas, compostas ou menos frequentemente podem ser simples, sem estípulas, margem inteira ou serrada. Apresenta uma diversidade morfológica de frutos muito alta, com uma infinidade de tipos encontrados na família, em geral drupa ou sâmara (PELL, 2004). As flores são pouco vistosas, geralmente unissexuadas (plantas monóicas, dióicas ou poligâmicas), actinomorfas, diclamídeas; cálice geralmente pentâmero, dialissépalo ou

gamossépalo, prefloração valvar ou imbricada; estames em número igual ou duplo ao das pétalas, raramente numerosos ou apenas 1 fértil (*Anacardium*, *Mangifera*), geralmente livres entre si, ocasionalmente epipétalos, anteras rimosas, estaminódios frequentes; disco nectarífero presente; gineceu gamocarpelar, ovário geralmente súpero, 1-12-carpelar, 1-12-locular, mas geralmente com apenas um lóculo fértil, placentação ereta ou pêndula, lóculos uniovulados (SOUZA & LORENZI, 2005).

O gênero *Spondias*, foi criado por Linnaeus em 1753, baseado apenas em *S. mombin* L., nativa da América Tropical (AIR SHAW & FORMAN, 1967). No Brasil, especialmente na região Nordeste, o gênero *Spondias* está representado por *S. mombin* (cajazeira) e *S. cytherea* Sonner (cajaraneira), principalmente nas áreas próximas ao litoral, assim como a sirigueleira (*S. purpurea* L.), ainda que em condições de semiárido esta espécie seja encontrada em perímetros irrigados com significativa produtividade. *S. venulosa* Mart ex Engl. (cajazineiro), embora endêmica da Mata Atlântica, também se encontra em algumas áreas de semiárido, entre os remanescentes da Floresta Estacional Semidecidual. Outra espécie é a *S. macrocarpa* Engl. (cajá-redondo). No entanto, a espécie típica da paisagem do semiárido nordestino é a *S. tuberosa* Arruda Câmara, com um porte inferior ao das anteriores e copa com profusas ramificações (CARVALHO, 2006).

Dentre as 18 espécies que pertencem a este gênero, seis ocorrem no Nordeste brasileiro e são árvores frutíferas tropicais em domesticação, exploradas pelo valor comercial dos seus frutos. Duas dessas espécies são exploradas extrativamente: a cajazeira, que tem como centro de diversidade a Amazônia Ocidental e a Mata Atlântica (MITCHELL & DALY, 1998), e o umbuzeiro, nativo do semiárido nordestino (PRADO & GIBBS, 1993); as outras quatro são cultivadas empiricamente em pomares domésticos: a sirigueleira, provavelmente originária do México ou América Central (MILLER & SCHAAL, 2005), a cajaraneira, proveniente da Polinésia (AIR SHAW & FORMAN, 1967), a umbu-cajazeira, provável híbrido natural entre *S. mombin* e *S. tuberosa* (GIACOMETTI, 1993) e a umbugueleira (*Spondias* sp.), provável híbrido natural, que se assemelha à *S. tuberosa* e à *S. mombin*, sendo sua ocorrência reportada nas cidades de Santa Isabel e Tururu, nos estados da Paraíba e do Ceará, respectivamente (SOUZA, 1998). Estas espécies produzem frutos do tipo drupa, de boa aparência, nutritivos, com aroma e sabor agradáveis, muito apreciados para o consumo como fruta in

natura ou processados como polpa, sucos, doces, néctares, picolés e sorvetes, sendo evidente sua crescente comercialização nos mercados, supermercados e restaurantes do País (MARTINS & MELLO, 2006). A cajazeira, além do aproveitamento do fruto para o consumo humano, apresenta potencial de exploração farmacológica, já que o extrato das folhas e dos ramos tem propriedades medicinais no controle de bactérias gram negativas e gram positivas (AJAO et al., 1985) e do vírus do herpes simples (CORTHOUT et al., 1992).

Pelas potencialidades apresentadas por esse gênero, pode-se afirmar que se trata de um recurso fitogenético importante para o Nordeste, onde as condições edafoclimáticas favorecem o seu cultivo e a sua produção (NORONHA et al., 2000).

Análises cariotípicas de seis espécies do gênero *Spondias* (*S. tuberosa*, *S. mombim*, *S. venulosa*, *S. cytherea*, *S. purpurea* e *Spondias* sp.) demonstraram que todas apresentam $2n = 32$ cromossomos, exibindo cariótipos semelhantes e cromossomos pequenos. Em geral, cada espécie mostrou um par de cromossomos maiores, 11 pares intermediários, de cromossomos metacêntricos a submetacêntricos, e quatro pares de pequenos cromossomos subtelo-cêntricos (ALMEIDA et al., 2007).

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

A umbu-cajazeira é uma frutífera típica da região semiárida, encontrada também em outros ecossistemas, como o da Mata Atlântica. Apesar de ocorrer comumente em áreas semiáridas, também é encontrada em regiões litorâneas, mais úmidas, provavelmente em decorrência de movimentos antrópicos, conforme se verifica pela localização das plantas, que, em regra, se encontram próximas a residências, indicando estreita dependência da presença humana no que concerne à sua propagação e dispersão (SOARES FILHO & RITZINGER, 2006). Na Bahia, ocorre nas regiões fisiográficas da Chapada Diamantina, Litoral Norte, Nordeste, Paraguaçu, Recôncavo e outras ainda não prospectadas.

No Brasil, a superfície semiárida ocupa uma área total de 969.589,4 km², anteriormente 892.309,4 km², compreendendo atualmente, 1.133 municípios integrantes (Figura 1). Para redelimitar o espaço geográfico dessa área foi tomado três critérios técnicos, a saber: I) precipitação pluviométrica média anual inferior a 800 mm; II) índice de aridez (IA) de até 0,5 – calculado pelo balanço

hídrico que relaciona as precipitações e a evapotranspiração potencial, no período de 1961 e 1990; e III) risco de seca maior de 60%, tomando-se por base o período de 1960 e 1990. O clima tropical semiárido no Brasil caracteriza-se basicamente pelo regime e pela quantidade de chuvas, definido pela escassez, pela irregularidade e pela concentração das precipitações pluviométricas que vão de um mínimo de 400 mm a um máximo de 800 mm ao ano, sendo que a pluviosidade concentra-se em um curto período de cerca de três meses, durante o qual ocorre sob a forma de fortes aguaceiros de curta duração, conforme sustenta o Plano Estratégico de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido (PDSA, 2005).

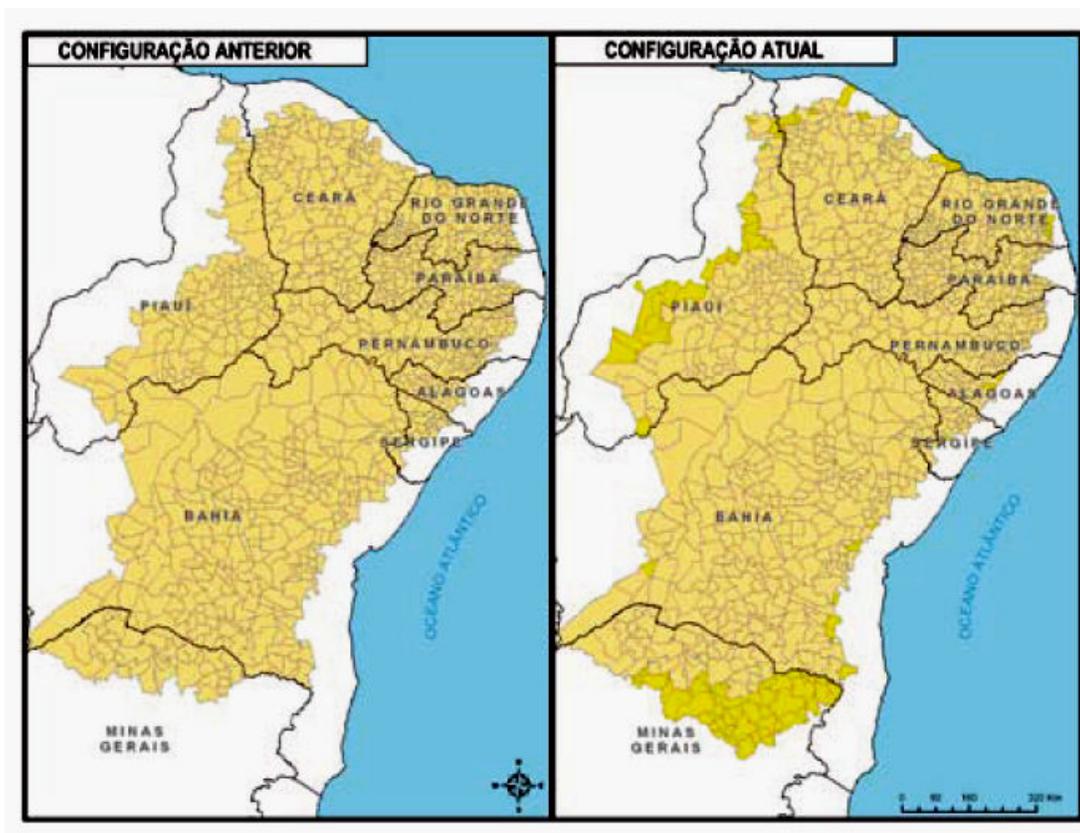


Figura 1 – Mapa com nova delimitação do semiárido (Ministério da Integração Nacional-MI/Grupo de Trabalho Interministerial-GTI/Plano Estratégico de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido-PDSA, 2005).

O semiárido nordestino é um dos mais úmidos do planeta. Na maioria das zonas áridas de outros países, a precipitação média anual é da ordem de 80 a 250 mm (MELO FILHO & SOUZA, 2006). No estado da Bahia, de modo geral, os solos no semiárido são poucos profundos, apresentam boa fertilidade química e

pH normalmente em torno da neutralidade, mas podendo tornar-se alcalino nas áreas calcárias (CHAVES & KINJO, 1987).

DESCRIÇÃO BOTÂNICA

A umbu-cajazeira é uma planta arbórea (Figura 2A), com porte relativamente elevado, a copa é aberta, com 12 a 16 m de diâmetro, e altura média de 8 a 12 m, podendo ultrapassar 20 m. O tronco é semiereto, rugoso e apresentando coloração acinzentada (SILVA, 2008). A raiz é caracterizada pela presença de xilopódio (SOUZA, 1998). Sua floração concentra-se de novembro a dezembro e a frutificação de março a maio, geralmente com três picos de colheita. A inflorescência é uma panícula terminal (Figura 2B) onde se encontram, ao mesmo tempo, flores masculinas (estaminadas) e hermafroditas (perfeitas), sendo a umbu-cajazeira uma planta andromonóica (CRUZ et al., 2009). Usualmente é propagada pelo método vegetativo, mediante estacas de 35 cm de comprimento e 1,5 cm de diâmetro (LOPES, 1997; SOUZA, 1998) ou por enxertia, sobre porta-enxertos de umbuzeiro (RITZINGER et al., 2008), pois apresenta cerca de 90% dos frutos desprovidos de sementes (SOUZA et al., 1997), o que dificulta sua propagação sexual.

Os frutos são do tipo drupa (Figura 2C) e têm participação crescente no agronegócio da região Nordeste, principalmente no comércio como fruta fresca e processamento de polpa, com grande aceitação no mercado pelo seu sabor, aroma, excelente qualidade e boas características agroindustriais, como rendimento da polpa acima de 60% e sólidos solúveis de 13%, sendo utilizados como matéria-prima no preparo de sucos, picolés, sorvetes, néctares, geleias e vinhos.



FOTO: Ivonilda Santana

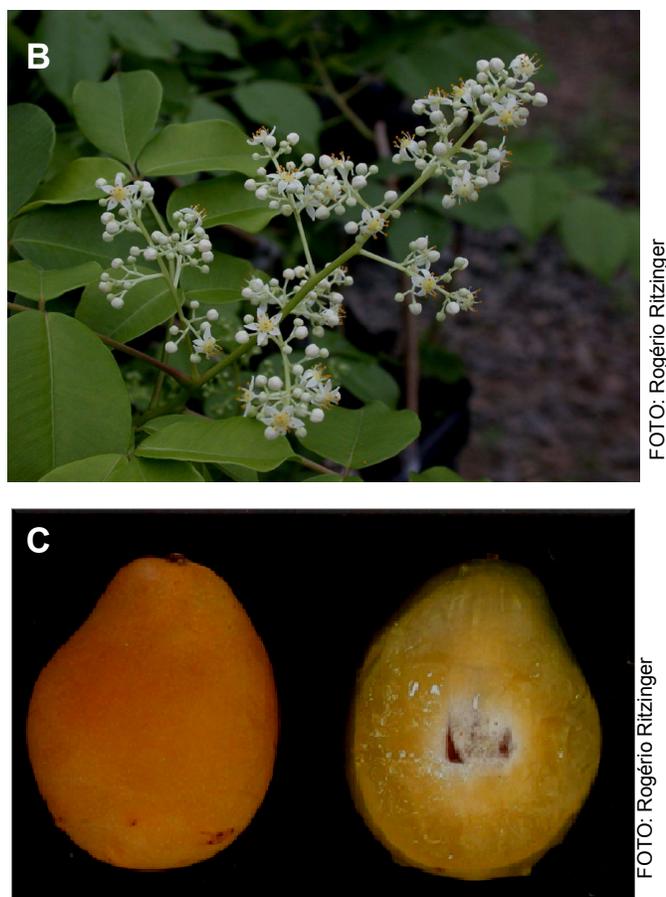


Figura 2 - Detalhe da planta adulta (A), da inflorescência (B) e do fruto (C) de umbu-cajazeira (*Spondias* sp.).

RECURSOS GENÉTICOS

Apesar de todo este potencial, há falta de pomares comerciais e as agroindústrias ficam totalmente dependentes da produção obtida do extrativismo, que é sazonal e insuficiente para operacionalização das fábricas durante todo o ano (MARTINS & MELO, 2006). Segundo Alves (2009), a demanda pelo fruto tem aumentado, devido ao amplo consumo de sua polpa, despertando assim o interesse para o cultivo da espécie, que ainda é considerada em fase de domesticação, com poucas informações disponíveis sobre o manejo dessa cultura.

Portanto, sua inserção como espécie frutífera nos modelos agronômicos modernos requer a identificação de genótipos que apresentem elevada capacidade produtiva e frutos de boa qualidade (BOSCO et al., 2000). Carvalho et al. (2008), estudando a variabilidade de três populações de umbu-cajazeiras, num

total de 50 genótipos, no estado da Bahia, mediante a análise de variáveis morfológicas, físicas e químicas do fruto, utilizando análise de agrupamento, constataram a existência de considerável diversidade genética entre indivíduos nas áreas amostradas, confirmando o potencial produtivo dessa fruteira.

Em trabalhos de melhoramento genético, a caracterização de genótipos constitui uma das principais etapas do processo, pois permite identificar, selecionar e indicar materiais superiores, principalmente quando se envolve espécies perenes (FARIAS NETO et al., 2005).

Com relação a *Spondias*, a seleção de plantas que apresentam características de boa produtividade e precocidade na produção de frutos são aspectos importantes no seu melhoramento genético (VILLACHICA, 1996), bem como a qualidade na composição química dos frutos. O uso de cultivares adaptadas às diferentes condições de clima, solo e sistema de produção é o princípio fundamental para a obtenção de incrementos de produtividade e de qualidade de qualquer vegetal (NOGUEIRA et al., 2006); portanto, a geração de novas cultivares mais produtivas e com características qualitativas superiores, como cor do fruto, sabor, odor, textura e coloração da polpa, teor de açúcares, acidez, resistência ao transporte, entre outros, tem sido o grande desafio do melhoramento genético de fruteiras. Por conseguinte, a caracterização físico-química de frutos de acessos de espécies frutíferas é de inquestionável valor na fase de seu pré-melhoramento genético, visto que são quantificadas propriedades organolépticas de frutos de genótipos com potencial de uso *per se* bem como em futuros programas de melhoramento genético (SANTANA et al., 2009).

A utilização de recursos genéticos tem viabilidade fundamentada na coleta, introdução, conservação e intercâmbio de acessos de uma dada espécie ou cultura, bem como em sua caracterização e avaliação. A conservação oferece suporte aos trabalhos de melhoramento genético, viabiliza o intercâmbio de germoplasma e, especialmente, a preservação da variabilidade genética, enquanto a caracterização e avaliação permitem conhecer qualidades e potencialidades do germoplasma (QUINTAL, 2009).

Tradicionalmente, 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). Um dos grandes problemas na utilização dos marcadores fenotípicos é seu número reduzido, a

ausência de ligação destes com características de importância econômica e os efeitos deletérios das mutações, que limitam sua utilização (GUIMARÃES & MOREIRA, 1999). Assim, a seleção de descritores com alta herdabilidade e estáveis é de grande importância na caracterização genotípica da umbu-cajazeira.

Em populações naturais, os estudos genéticos têm o objetivo de analisar e quantificar a distribuição da variabilidade genética no tempo e no espaço, dentro e entre populações, permitindo melhor entendimento de como a seleção está atuando em função da adaptabilidade a um dado ambiente (ESTOPA et al., 2006). Conhecer os padrões de variabilidade genética entre e dentro de populações é um valioso instrumento que poderá ajudar na adoção de práticas mais eficientes no tocante à sua conservação e manejo, e fornecer subsídios para medidas de conservação *in situ* (FRANKEL et al., 1995; PEAKALL et al., 2003; RENAU-MORATA et al., 2005; RIBEIRO & RODRIGUES, 2006; QUINTAL, 2009).

Desde o ano 2000, a Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical vem realizando trabalhos de prospecção genética no estado da Bahia, em 24 municípios baianos, 18 dos quais situados em região semiárida (Amargosa, Andaraí, Boa Vista do Tupim, Cabaceiras do Paraguaçu, Iaçú, Ipirá, Itaberaba, Itaetê, Itatim, Milagres, Santa Bárbara, Santanópolis, Santa Teresinha, Santo Estevão, Serra Preta, Serrinha, Tanquinho de Feira e Utinga) e seis em região de clima subúmido (Coração de Maria, Cruz das Almas, Irará, Muritiba, São Gonçalo dos Campos e Sapeaçu), no sentido de localizar áreas de ocorrência, preservar, caracterizar e avaliar genótipos de umbu-cajazeiras. Os materiais genéticos coletados foram georeferenciados, estabelecendo-se uma coleção *in situ* dos mesmos. Avaliações preliminares foram realizadas nos frutos desses indivíduos, no sentido de detectar genótipos superiores em relação a caracteres morfoagronômicos. Aqueles que se destacaram a partir dessas análises, foram clonados e compõem o BAG Fruteiras Tropicais, atualmente com 26 acessos, sendo 20 de umbu-cajazeiras, constituindo o primeiro banco de germoplasma desta espécie no estado da Bahia. Recursos genéticos de *Spondias* também estão disponíveis em bancos ativos de germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA-PE) e da Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba S.A. (EMEPA-PB).

MARCADORES MOLECULARES ISSR

Para assegurar o desenvolvimento de materiais genéticos comprovadamente superiores, ferramentas baseadas no uso de marcadores moleculares podem ser associadas ao melhoramento genético convencional, por serem capazes de aumentar a velocidade de resposta dos programas (CARNEIRO, 2002; FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998).

Um marcador molecular com grande potencial para a aplicação em programas de melhoramento genético é o ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*), que se destaca devido ao elevado grau de polimorfismo, reprodutibilidade e baixo custo (SALIMATH et al. 1995). Desenvolvido por Zietjiewicz et al. (1994) e popularizado pelos trabalhos de Wolfe et al. (1998), este marcador contorna a problemática da informação prévia das sequências que flanqueiam os microssatélites. Quando comparados com os marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), os iniciadores ISSR são mais robustos, porque apresentam maior superfície de ancoragem e possuem maiores temperaturas de anelamento, aumentando a reprodutibilidades de seus produtos (TSUMURA et al., 1996). São marcadores dominantes, semiarbitrários, amplificados via PCR (*Polymerase Chain Reaction*) em presença de oligonucleotídeos complementares para motivos de microssatélite, podendo ser ancorado no final 3' ou 5' com 1 a 4 bases de purina ou pirimidina (LIU & WENDEL, 2001; PATZAK, 2001; SOUZA et al., 2005) (Figura 3).

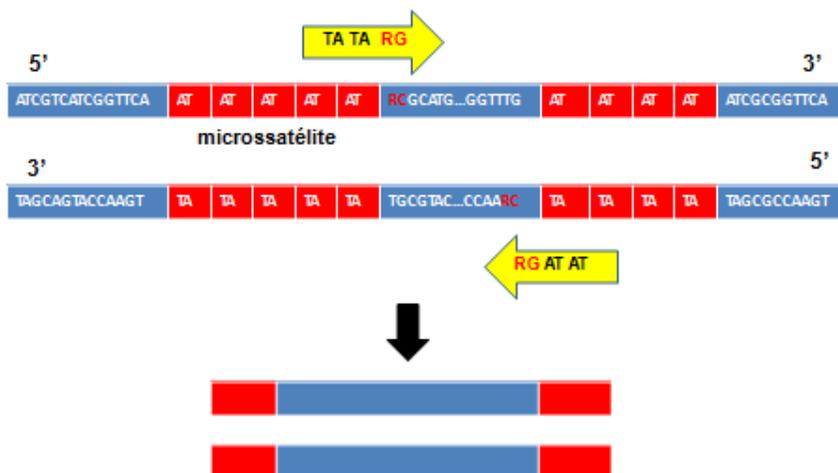


Figura 3 - Esquema do desenho de *primers* ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) e da amplificação (GIANFILLIPI, 2006).

Marcadores ISSR têm sido usados em diversos estudos para análise da variabilidade entre linhas híbridas de cultivares, complexos híbridos naturais e variabilidade em genética de populações (WOLFE & LISTON, 1998; WOLFE et al. 1998; WOLFE & RANDLE, 2001; SOUZA et al., 2005; WOODS et al., 2005; SLOTTA & PORTER, 2006; XIAO et al., 2006).

Costa et al. (2008), ao determinar um protocolo para análise de divergência genética de Caricaceae, utilizando marcadores ISSR, concluíram que a técnica foi eficiente no estudo de relações filogenéticas nesta família. Os resultados confirmaram a robustez da técnica em termos de repetibilidade e também sua grande capacidade em gerar polimorfismos, com um número bastante reduzido de *primers*. Segundo Santos et al. (2009), estes marcadores revelaram ampla variabilidade genética dentro e entre acessos de maracujazeiro (*Passiflora* spp.), podendo ser usados com sucesso na caracterização molecular de germoplasma.

ANÁLISE ESTATÍSTICA DA DIVERGÊNCIA GENÉTICA

Os métodos estatísticos que têm sido mais amplamente utilizados na análise da divergência genética são os métodos de agrupamento hierárquicos ou de otimização. Dentre os métodos de agrupamento hierárquicos, os mais utilizados pelos melhoristas em estudos de divergência genética, em diversas espécies vegetais, são o do “Vizinho Mais Próximo” (*Single Linkage Method*) e o método de UPGMA (*Unweighted pair-group method with arithmetical average*); este último vem sendo amplamente utilizado (CRUZ & REGAZZI, 2001). Em relação aos métodos de otimização, o mais usado é o de Tocher (RAO, 1952).

As técnicas de agrupamento dependem de uma medida de dissimilaridade que, para variáveis quantitativas, pode ser a distância euclidiana ou a de Mahalanobis; a escolha de uma ou de outra distância está baseada na precisão experimental, sendo a distância euclidiana média padronizada a mais empregada na caracterização de germoplasma de plantas perenes, onde os acessos estão sem casualização e controle local (CRUZ & CARNEIRO, 2003; CRUZ et al., 2004).

Outro aspecto a ser considerado na análise da divergência genética é que nem todas as características morfoagronômicas apresentam variação contínua (quantitativas) ou podem ser quantificadas por alguma escala métrica bem definida. Este é o caso de algumas características qualitativas ou também

denominadas de multicategóricas (COIMBRA et al., 2001). Como exemplos desse tipo de característica podem ser citados alguns atributos que conferem qualidade ao produto comercializado, como aqueles relacionados à forma, à coloração, à consistência, dentre outros. Neste caso, cada classe fenotípica distinta de um mesmo caráter recebe uma representação numérica, para então ser estimada a dissimilaridade genética entre os genótipos. Essa representação numérica das classes fenotípicas de um dado caráter compromete a utilização da Distância Euclidiana média ou até mesmo da Distância Generalizada de Mahalanobis como medida de dissimilaridade. Isso ocorre porque não é correto afirmar que a distância genética entre dois indivíduos com representações numéricas mais discrepantes, tais como 1 e 5, por exemplo, seja maior que a distância genética entre outros dois indivíduos com representações numéricas mais próximas, tais como 1 e 2 (CRUZ & CARNEIRO, 2003). Dessa forma, Cruz & Regazzi (2001) sugerem a estimação de um índice de similaridade (s_{ij}) para a análise de conjuntos de dados referentes a características multicategóricas. Os principais índices de similaridades utilizados são o de coincidência simples (S_{SM}), o de Jaccard (S_J) e o de Dice (S_D). No entanto, na avaliação da divergência genética a medida requerida é a dissimilaridade, que pode ser facilmente estimada pelo complemento do índice de similaridade (d_{ij}). Os complementos aritméticos desses coeficientes representam dissimilaridades ($d = 1 - S$), as quais têm propriedades de distâncias, sendo que a dissimilaridade obtida pelo complemento aritmético do coeficiente de Dice (d_D) também pode ser denominada de distância de Nei-Li (REIF et al., 2005).

Para dados moleculares, onde se obtém uma matriz composta por dados binários, representados pelos números 0 (ausência) e 1 (presença de bandas), aplicam-se os índices de similaridades que variam de 0 a 1, sendo as dissimilaridades obtidas de seus complementos (CRUZ & CARNEIRO, 2003; CRUZ et al., 2004; DIAS, 1998).

Porém, independente da variável, se qualitativa, binária ou multicategórica, essas medidas são frequentemente interpretadas e visualizadas por técnicas multivariadas.

Os métodos multivariados empregados com frequência na visualização e interpretação da diversidade em plantas perenes compreendem: análises de componentes principais, análises de agrupamentos e variáveis canônicas

(ALVES, 2002; ARAÚJO et al., 2002; BARROS, 1991; CASTELLEN et al., 2007; CURY, 1993; DIAS, 1994; DIAS et al., 1997; MARTEL et al., 2003; MOURA, 2003; SOUSA, 2003; STATON et al., 1994).

Contudo, na maioria das vezes, a análise e interpretação das variáveis quantitativas e qualitativas são feitas separadamente devido à falta de modelos matemáticos que associem as informações dos dados gerados pelos caracteres agronômicos (quantitativos) e morfológicos e/ou moleculares (qualitativos) em uma única matriz de dados. Dessa maneira, verificam-se várias discrepâncias em relação aos agrupamentos e às inferências relativas à quantificação da variabilidade genética entre os acessos de um banco de germoplasma. Para contornar essa situação, Gower (1971) propôs uma metodologia para análise combinada de variáveis quantitativas e qualitativas, de modo que valores da matriz de distância fiquem compreendidos entre 0 e 1, necessitando da padronização desses dados. Este método vem sendo utilizado na análise conjunta de dados de germoplasma vegetal por vários autores (LEDO et al., 2009a; LEDO et al., 2009b; MATTOS et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2009; TSIVELIKAS et al., 2009).

Em função do exposto, o presente trabalho apresenta como principais objetivos:

- a) avaliar a divergência genética entre acessos de umbu-cajazeira pertencentes ao BAG Fruteiras Tropicais por meio de marcadores ISSR, a fim de quantificar a variabilidade genética;
- b) promover a análise simultânea de caracteres quantitativos (agronômicos) e qualitativos (morfológicos e moleculares) em acessos de umbu-cajazeira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIR SHAW, H. K.; FORMAN, L. L. The genus *Spondias* L. (Anacardiaceae) in tropical Asia. **Kew Bulletin**. v. 21, n. 1, p. 1-19, 1967.

AJAO, A. O.; SHONUKAN, O. O.; FEMI-ONDEKO, B. Antibacterial effect of aqueous and alcohol extracts of *Spondias mombin* and *Alchornea cordifolia*: Two local antimicrobial remedies. **International Journal of Crude Drug Research**, Leisse, v.23, n. 2, p. 67-72, 1985.

ALICE-web. Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior, da Secretária de Comércio Exterior (SECEX), do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC). Disponível em: <http://aliceweb.desenvolvimento.gov.br>. Acesso em: 20.ago.2008

ALMEIDA, C. C. de S.; CARVALHO, P. C. L. de; GUERRA, M. Karyotype differentiation among *Spondias* species and the putative hybrid umbu-cajá (Anacardiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, **155**, p. 541-547, 2007.

ALVES, R. M. **Caracterização genética de populações de cupuaçuzeiro, *Theobroma grandiflorum* (Will ex Spreng) Schum., por marcadores microssatélites e descritores botânico-agronômicos**. 2002. 146 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

ALVES, S. S. V. **Adubação fosfática, potássica e orgânica em cajazeira (*Spondias mombin* L.)**. 2009. 58 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Paraíba, Areias.

ARAUJO, D. G. de; CARVALHO, S. P.; ALVES, R. M. Divergência genética entre clones de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Wild ex Spreng Schum). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.1, p. 13-21, jan./mar. 2002.

BARROS, L. de M. **Caracterização morfológica e isoenzimática do cajueiro (*Anarcadium occidentale* L.), tipos comum e anão precoce, por meio de técnicas multivariadas**. 1991. 256p. Tese (Doutorado em Genética e

Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

BOSCO, J.; SOARES, K. T.; AGUIAR FILHO, S. P. de.; BARROS, R. **A cultura da cajazeira**. João Pessoa: EMEPA, 29 p. (Documentos, 28), 2000.

CARNEIRO, N. P. **Tipos de marcadores utilizados no melhoramento de plantas**. In: VI Simpósio sobre atualização em genética e melhoramento de plantas. TEMA: Melhoramento de plantas na era dos marcadores de moleculares. Lavras. p. 1-12, 2002.

CARVALHO, P. C. L. de. **Variabilidade morfológica, avaliação agrônômica, filogenia e citogenética em *Spondias* (Anacardiaceae) no nordeste do Brasil**. 2006. 155p. Tese (Docência em Botânica) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.

CARVALHO, P. C. L. de; SOARES FILHO, W. dos S.; RITZINGER, R.; CARVALHO, J. A. B. S. Conservação de Germoplasma de Fruteiras Tropicais com a participação do agricultor. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.1, p. 277-281, abr. 2002.

CARVALHO, P. C. L. de; RITZINGER, R.; SOARES FILHO, W. dos S.; LEDO, C. A. da S. Características morfológicas, físicas e químicas de frutos de populações de umbu-cajazeira no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.1, p. 140-147, mar. 2008.

CASTELLEN, M. da S.; LEDO, C. A. da S.; OLIVEIRA, E. J. de; MONTEIRO FILHO, L. S.; DANTAS, J. L. L. Caracterização de acessos do Banco Ativo de Mamão por meio de análise multivariada. **Magistra**, Cruz das Almas-BA, v. 19, n. 4, p. 299-303, out./dez., 2007.

CHAVES, L. H. G.; KINJO, T. Relação quantidade/intensidade de potássio em solos do trópico semi-árido brasileiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, SP, v.11, n.3, p. 257-261, 1987.

COIMBRA, R. R.; MIRANDA, G. V.; MOREIRA, G. R.; SILVA, D. J. H.; CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S.; SOUZA, L. V.; GUIMARÃES, L. J. M.; MARCASSO, R.

C.; CANIATO, F. F. Divergência genética de cultivares de milho baseada em descritores qualitativos. In: III SIRGEALC - Simpósio de Recursos Genéticos para a América Latina e Caribe. Londrina, 2001. **Anais do III SIRGEALC...** Londrina: IAPAR, 2001, p. 266-268.

CORTHOUT, J.; PIETERS, L. A.; CLAEYS, M.; VANDENBERGHE, D. A.; VLIETINCK, A. J. Antiviral caffeoyl esters from *Spondias mombin*. **Phytochemistry**, Oxford, v.31, n.6, p. 1979-1981, 1992.

COSTA, F. R. da; PEREIRA, T. N. S.; GABRIEL, A. P. C.; PEREIRA, M. G. Estudos filogenéticos em Caricaceae com base em marcadores ISSR. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 20, 2008, Vitória, ES. **Anais**. Vitória: Incaper, 2008. 1 CD-ROM.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. Diversidade genética. In: CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. (eds.). **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**, v.2. Viçosa: UFV, 2003, p. 357-434.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**, Viçosa: UFV, 2001. 309 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, J. A.; CARNEIRO, P. C. S. Divergência genética. In: CRUZ, C. D.; REGAZZI, J. A.; CARNEIRO, P. C. S. (Eds.). **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2004. v. 1, Cap. 8, p. 377-413.

CRUZ, E. S. da; RITZINGER, R.; SOARES FILHO, W. dos S. Avaliação do florescimento de acessos de umbu-cajazeira. In: SEMINÁRIO DE PESQUISA DO RECÔNCAVO DA BAHIA, 3.; SEMINÁRIO ESTUDANTIL DE PESQUISA DA UFRB, 3.; SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFRB, 3., 2009, Cruz das Almas. Evolução do conhecimento e o desenvolvimento social: [resumos...]. Cruz das Almas: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2009. 01 CD-ROM.

CURY, R. **Dinâmica evolutiva e caracterização de germoplasma de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) na agricultura autóctone do Sul do Estado de São Paulo**. 1993. 103 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

DIAS, L. A. dos S. **Divergência genética e fenética multivariada na predição de híbrido e preservação de germoplasma de cacau** (*Theobroma cacao* L.). 1994. 94 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

DIAS, L. A. dos S. Análises multidimensionais. In: ALFENAS, A. C. (Ed.). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos**. Viçosa, MG: UFV, 1998. p. 405-473.

DIAS, L. A. dos S.; KAGEYAMA, P. Y.; CASTRO, G. C. T. Divergência genética multivariada na preservação de germoplasma de cacau (*Theobroma cacao* L.). **Agrotrópica**, Bahia, v. 9, n. 1, p. 29-40, 1997.

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

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FaoStat**. Disponível em: <http://faostat.fao.org> Acesso em: 20.ago.2008

FARIAS NETO, J. T. de; OLIVEIRA, M. do S. P. de; MULLER, A. A.; NOGUEIRA, O. L.; ANAISSI, D. F. S. P. Variabilidade genética em progênies jovens de açazeiro. **Cerne**, Lavras, v. 11, n. 4, p. 336-341, out./dez. 2005.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares**. 3. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. p. 220.

FRANKEL, O. H.; BROWN, A. H. D.; BURDON, J. J. **The conservation of plant biodiversity**. Cambridge: Cambridge University, 1995. 299 p.

GIACOMETTI, D. G. 1993. Recursos genéticos de fruteiras nativas do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS. 1992, Cruz das Almas-BA. **Anais...** Cruz das Almas: Embrapa-CNPMPF, p. 13-27.

GIANFILIPPI, F. **Studio della diversita molecolare popolazioni locali italiane di lenticchia (*Lens culinaris* Medik) tramite marcatori**. Tuscia: Univerità degli studi della Tuscia, 2006. Tesi de láurea Agrária.

GOWER, J. C., A general coefficient of similarity and some of its properties. **Biometrics**, 27, 857-874, 1971.

GUIMARÃES, C. T.; MOREIRA, M. A. Genética molecular aplicada ao melhoramento de plantas. In: BORÉM, A. (Ed.). *Melhoramento de espécies cultivadas*. Viçosa: UFV, 1999. p.715-740.

IBRAF – Instituto Brasileiro de Fruticultura. Base de dados Datafruta. São Paulo, 2008.

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

LEDO, C. A. da S.; GONÇALVES, L. S. A.; SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D. Análise de agrupamento utilizando variáveis quantitativas e qualitativas para o estudo da diversidade genética em acessos de abacaxizeiro. In: Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 5, 2009, Guarapari. **Anais**. Vitória: Incaper, 2009a.

LEDO, C. A. da S.; TAVARES FILHO, L. F. de Q.; OLIVEIRA, M. M. de; SILVEIRA, T. C. da; SANTOS, A. S.; ALVES, A. A. C.; GONÇALVES, L. S. A. Análise de agrupamento utilizando variáveis quantitativas e qualitativas para o estudo da diversidade genética em genótipos de mandioca silvestre. In: Congresso Brasileiro de Mandioca, 13, 2009, Botucatu. **Anais**. Botucatu : Unesp, 2009b.

LIU, B.; WENDEL, J. F. Intersimple Sequence Repeat (ISSR) polymorphisms as a genetic marker system in cotton. **Molecular Ecology Notes**, v.1, p.205-208, 2001.

LOPES, W. F. **Propagação Assexuada de Cajá (*Spondias mombim* L.) e Cajá-umbu (*Spondias spp*) através de Estacas**. Areia: UFPB/CCA, 1997. 40 p.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia). Universidade Federal da Paraíba, Paraíba.

MARTEL, J. H. I.; FERRAUDO, A. S.; MÔRO, J. R.; PERECIN, D. Estatística multivariada na discriminação de raças amazônicas de pupunheiras (*Bactris gasipaes* Kunth) em Manaus. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.1, p.1-9, abr. 2003.

MARTINS, S. T.; MELO, B. Característica do cajá. **TodaFruta**, 04 jan. 2006.

Disponível em:

http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=11025.

Acesso em: 20 mar. 2008.

MATTOS, L. A.; AMORIM, E. P.; AMORIM, V. B. de O.; KOHEN, K. de O.; LEDO, C. A. da S.; SILVA, S. de O. e. Agronomical and molecular characterization of banana germplasm. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, n.2, p.146-154, 2010.

MELO FILHO, J. F. de; SOUZA, A. L. V. O manejo e a conservação do solo no semiárido nordestino: desafios para a sustentabilidade. **Bahia Agrícola**, v.7, n.3, nov.2006.

MILLER, A.; SCHAAL, B. Domestication of a mesoamerican cultivated fruit tree, *Spondias purpurea*. **Proceeding of the National Academy of Science of the United States of America**, v.102, p.12801-12806, 2005.

MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO NACIONAL. Secretaria de Políticas de Desenvolvimento Regional. **Plano Estratégico de Desenvolvimento do Semiárido**. Brasília: MI-SDR, 2005.

MITCHELL, J. D.; DALY, D. C. 1998. The “tortoise’s caja” – a new species of *Spondias* (Anacardiaceae) from southwestern Amazonia. **Brittonia**. 50(4): 447-451.

MOURA, E. F. **Divergência genética entre acessos de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*)**. 2003. 75 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, MG.

NOGUEIRA, O. L.; FIGUERÊDO, F. J. C.; MULLER, A. A. **Sistema de Produção do Açaí**. Embrapa Amazônia Oriental; Sistemas de Produção, n. 4, Belém, PA, 2006.

NORONHA, M. A. S. de; CARDOSO, E. de A.; DIAS, N. da S. Características físico-químicas de frutos de umbu-cajá *Spondias* sp. provenientes dos pólos Baixo-Jaguaribe (CE) e Assu-Mossoró (RN). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.2, n.2, p. 91-96, 2000.

OLIVEIRA, E. J.; LIMA, D. S.; COSTA, J. L.; SANTOS, L. F.; MACHADO, M. D.; LUCENA, R. S.; MOTTA, T. B. N.; DANTAS, J. L. L.; LEDO, C. A. da S.; GONÇALVES, L. S. A. Análise de agrupamento em genótipos de mamoeiro utilizando caracteres morfo-agronômicos e moleculares simultaneamente. In: Congresso Brasileiro de melhoramento de Plantas, 5, 2009, Guarapari. **Anais**. Vitória: Incaper, 2009.

OLIVEIRA, J. M. C. de. **Mosca Negra dos Citros: possíveis impactos na fruticultura baiana**. 2009. 63 p. Trabalho de conclusão de curso (Especialização em Defesa Sanitária) – União Metropolitana de Educação e Cultura, Lauro de Freitas.

PATZAK, J. Comparison of RAPD, STS, ISSR and AFLP molecular methods used for assessment of genetic diversity in hop (*Humulus lupulus* L.). **Euphytica**, Wageningen, v. 121, p. 9-18, 2001.

PEAKALL, R.; EBERT, D.; SCOTT, L. J.; MEAGHER, P. F.; OFFORD, C. A. Comparative genetic study confirms exceptionally low genetic variation in the ancient and endangered relictual conifer *Wollemia nobilis* (Araucariaceae). **Molecular Ecology**, Dordrecht, v.12, p. 2331-2343, 2003.

PELL, S. K. **Molecular Systematics of the Cashew Family (Anacardiaceae)**. 2004. 207 p. Dissertation (Doctor of Philosophy) – Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College. Louisiana.

PRADO, D. E.; GIBBS, P. E. Patterns of species distribution in the dry seasonal forests of South America. **Annual Missouri Botanic Garden**, v.80, p.902-927, 1993.

QUINTAL, S. S. R. **Caracterização a avaliação de um Banco de Germoplasma de mamoeiro para estudos dos parâmetros genéticos e diversidade genética**. Campo dos Goytacazes, 2009. 168 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, UENF.

RAO, C. R. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York: Wiley, 1952. 320 p.

REIF, J. C.; MELCHONGER, A. E.; FRISCH, M. Genetical and mathematical properties of similarity and dissimilarity coefficients applied in plant breeding and seed bank management. **Crop Science**, Madison, v.45, n. 1, p. 1-7, Jan./Feb. 2005.

RENAU-MORATA, B.; NEBAUER, S. G.; SALES, E.; ALLAINGUILLAUME, J.; CALIGARI, P.; SEGURA, J. Genetic diversity and structure of natural and managed populations of *Cedrus atlantica* (Pinaceae) assessed using random amplified polymorphic DNA. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 92, n. 5, p. 875-884, 2005.

RIBEIRO, R. A.; RODRIGUES, F. M. Genética da conservação em espécies vegetais do cerrado. **Revista Ciências Médicas Biológicas**, Salvador, v. 5, n. 3, p. 253-260, set./dez.2006.

RITZINGER, R.; SOARES FILHO, W. dos S.; CASTELLEN, M. da S. Coleção de *Spondias* sp. da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. In: LEDERMAN, I. E.; LIRA JUNIOR, S. de; SILVA JUNIOR, F. de. (Ed.) **Spondias no Brasil: umbu, cajá e espécies afins**. Recife: IPA / UFPE, 2008. p. 86-90.

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.; SOARES FILHO, W. dos S.; RITZINGER, R.; LEDO, C. A. da S.; COSTA, M. A. P. de C.; MOREIRA, R. F. C.; LUQUINE, L. S.; CRUZ, E. S. da Análise da diversidade genética de acessos de umbu-cajazeira (*Spondias* spp.) mediante caracterização físico-química de frutos. In: CONGRESSO BRASILEIRO

DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 5., 2009, Guarapari. O melhoramento e os novos cenários da agricultura: **anais**. Vitória: Incaper, 2009. [Incaper. Documentos, 011). 01 CD-ROM.

SANTOS, L. F.; OLIVEIRA, E. J. ; COSTA, J. L. Variabilidade genética de acessos de maracujazeiro com o uso de marcadores ISSR. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 5., 2009, Guarapari. O melhoramento e os novos cenários da agricultura: **anais**. Vitória: Incaper, 2009. [Incaper. Documentos, 011). 01 CD-ROM.

SILVA, L. R. da. **Qualidade e atividade antioxidante de frutos de genótipos de umbu-cajazeiras (*Spondias* sp.) oriundos da microrregião de Iguatu, CE**. 2008. 135 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Paraíba, Paraíba.

SLOTTA, T. A. B.; PORTER, D. M. Genetic variation within and between *Iliamna corei* and *I. remota* (Malvaceae): implications for species delimitation. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 151, p. 345-354, 2006.

SOARES FILHO, W. dos S.; RITZINGER, R. Pré-melhoramento genético de fruteiras nativas: caso da umbu-cajazeira na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. In: LOPES, M. A.; FÁVERO, A. P.; FERREIRA, M. A. J. da; FALEIRO, F. G. (Org.). **Curso internacional de pré-melhoramento de plantas**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 126-128, 2006.

SOUSA, N. R. **Variabilidade genética e estimativas de parâmetros genéticos em germoplasma de guaranazeiro**. 2003. 99 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.

SOUZA, F. X. ***Spondias* Agroindustriais e os seus métodos de propagação (Frutas tropicais: cajá, ciriguela, cajarana, umbu, umbu-cajá e umbuguela)**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical/Sebrae/CE, 1998, 28 p (Documento 27).

SOUZA, F.X. de.; SOUZA, F.H.L.; FREITAS, J.B.S. Caracterização morfológica de endocarpos de umbu-cajá. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 48., 1997, Crato, CE. **Resumos...** Fortaleza: SBB/BNB, 1997. p. 121.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II.** Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2005. p. 432.

SOUZA, V. Q.; PEREIRA, A. S.; KOPP, M. M.; COIMBRA, J. L. M.; CARVALHO, F. I. F.; LUZ, V. K.; OLIVEIRA, A. C. Dissimilaridade genética em mutantes de aveia tolerantes e sensíveis a ácidos orgânicos. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 4, p. 569-575, 2005.

STATON, M. A.; STERWART, M. A.; PERCIVAL, A. E.; WENDEL, J. F. Morphological diversity and relationships in the A-genome cottons, *Gossypium arboreum* and *Gossypium gossypium*. **Crop Science**, Madison, v.34, n.2, p. 519-527, 1994.

TSIVELIKAS, A. L.; KOUTITA, O.; ANASTASIADOU, A.; SKARACIS, G. N.; TRAKA-MAVRONA, E.; KOUTSIKA-SOTIROU, M. Description and Analysis of Genetic Diversity among Squash Accessions. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.52, n.2, pp.271-283, March-April 2009.

TSUMURA, Y.; OHBA, K.; STRAUSS, S. H. Diversity and inheritance of inter-simple sequence repeat polymorphisms in Douglas-fir. (*Pseudotsuga menziesii*) and sugi (*Criptomeria japonica*). *Theoretical and Applied Genetics*, New York, v. 92, p. 40-45, 1996.

VILLACHICA, H. **Frutales y hortalizas promisorios de la Amazonia.** Lima: Tratado de Cooperación Amazonia, 1996. p. 33-42. (TCA-SPT, 44).

XIAO, M.; LI, Q.; WANG, L.; GUO, L.; LI, J.; TANG, L.; CHEN, F. ISSR analysis of the genetic diversity of the endangered species *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) ying from Western Sichuan Province, China. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 48, n. 10, p. 1140-1146, 2006.

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

WOLFE, A. D.; LISTON, A. Contributions of PCR-based methods to plant systematics and evolutionary biology. In: SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S.; DOYLE, J. J. (Ed.). **Plant molecular systematics II**. Boston: Kluwer, 1998. p. 43-86.

WOLFE, A. D.; XIANG, Q. Y.; KEPHART, S. R. Assessing hybridization in natural populations of *Penstemon* (Scrophulariaceae) using hypervariable intersimple sequence repeat (ISSR) bands. **Molecular Ecology**, v. 7, p. 1107-1125, 1998.

WOLFE, A. D.; RANDLE, C. P. Relationships within and among species of the holoparasitic genus *Hyobanche* (Orobanchaceae) inferred from ISSR banding patterns and nucleotide sequences. **Systematic Botany**, v. 26, n. 1, p. 120-130, 2001.

WOODS, K.; HILU, K. W.; WIERSEMA, J. H.; BORSCH, T. Pattern of variation and systematics of *Nymphaea odorata*: I. evidence from morphology and intersimple sequence repeats (ISSRs). **Systematic Botany**, v. 30, p. 471-480, 2005.

CAPÍTULO 1

VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE ACESSOS DE UMBU-CAJAZEIRA MEDIANTE ANÁLISE DE MARCADORES ISSR ¹

¹Artigo submetido ao Comitê Editorial do periódico científico Revista Brasileira de Fruticultura

VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE ACESSOS DE UMBU-CAJAZEIRA MEDIANTE ANÁLISE DE MARCADORES ISSR

Autora: Ivonilda Barbosa Brito Santana

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa

Co-orientador: Dr. Walter dos Santos Soares Filho

Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo Franco Cunha Moreira

RESUMO: Grande parte da diversidade genética de fruteiras está preservada em bancos ativos de germoplasma (BAGs) de várias instituições de pesquisa e ensino no país. Quantificar essa variabilidade genética é fundamental para avaliar o comportamento dessas espécies e assim identificar recursos genéticos de grande valor, tanto aqueles passíveis de ser diretamente introduzidos em sistemas de produção de frutos, como aqueles cujo emprego seja importante em programas de melhoramento genético. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a variabilidade genética entre acessos de umbu-cajazeira pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de Fruteiras Tropicais da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, por meio de marcadores moleculares ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*). Foram analisados 17 acessos de umbu-cajazeira, os quais produziram um total de 249 bandas, sendo 201 bandas polimórficas e 48 bandas monomórficas. As dissimilaridades genéticas entre os acessos variaram de 0,247 a 0,665. O método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Average*) agrupou os acessos em cinco grupos, sendo que 'Preciosa' e 'Suprema' foram os acessos mais similares. A maior dissimilaridade foi observada entre os acessos 'Esperança' e 'Pomar'. O alto grau de polimorfismo encontrado demonstrou a eficiência dos marcadores ISSR, indicando que estes podem ser utilizados com sucesso na caracterização molecular de germoplasma e em futuros trabalhos de melhoramento genético dessa frutífera. Existe considerável variabilidade genética entre os acessos de umbu-cajazeira presentes no BAG Fruteiras Tropicais, que pode ser explorada para conservação e melhoramento da espécie.

Palavras-chave: *Spondias* sp., marcadores moleculares, divergência genética.

GENETIC VARIABILITY AMONG UMBU-CAJAZEIRA ACCESSIONS BY ISSR MARKERS

Author: Ivonilda Barbosa Brito Santana

Adviser: DSc. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa

Co-adviser: DSc. Walter dos Santos Soares Filho

Co-adviser: DSc. Ricardo Franco Cunha Moreira

ABSTRACT: A large part of the genetic diversity of fruit crops is preserved in active germplasm banks (AGB) of several research and teaching institutions in the country. To quantify that genetic variability is fundamental to evaluate the behavior of those species and, in this way, to identify genetic resources of great value, either those possible to be introduced directly in fruit production systems, as those whose use is important in genetic breeding programs. The objective of this study was to characterize the genetic variability among accessions of umbu-cajazeira (*Spondias* sp.) from the Active Germplasm Bank of Tropical Fruits of Embrapa & Tropical Fruits, using ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) markers. Seventeen accessions of umbu-cajazeira were analyzed, which produced a total of 249 bands, out of which 201 were polymorphic bands and 48 bands were monomorphic. The genetic dissimilarity among accessions ranged from 0,247 to 0,665. The UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Average*) method grouped the accessions into five groups, showing that 'Preciosa' and 'Suprema' were the most similar accessions. The greatest dissimilarity was observed between the accessions 'Esperança' and 'Pomar'. It was found a high degree of polymorphism, which demonstrates the efficiency of ISSR markers, indicating that these can be successfully used for molecular germplasm characterization and in future breeding studies with this fruit crop. There is considerable genetic variability among the umbu-cajazeira accessions of the Active Germplasm Bank of Tropical Fruits, which can be used for conservation and cultivar improvement.

Key-words: *Spondias* sp., molecular markers, genetic divergence.

INTRODUÇÃO

A umbu-cajazeira (*Spondias* sp.), também denominada de cajá-umbuzeiro, é uma árvore pertencente à família Anacardiaceae Lindl., gênero *Spondias* L., que ocorre ao lado do umbuzeiro (*S. tuberosa* Arruda Câmara) no semiárido nordestino (CARVALHO et al., 2008). Apresenta características de planta xerófita, encontrada em plantios desorganizados, disseminados nos estados do Nordeste (SILVA, 2008) e que possui boas perspectivas de aproveitamento econômico dos seus frutos (RITZINGER et al., 2008).

A Caatinga é um ecossistema que, apesar da rica diversidade de espécies vegetais adaptadas às condições de estresse hídrico, tem sido objeto de poucos trabalhos de prospecção e conservação da sua variabilidade genética, sendo o Semiárido uma das regiões mais degradadas do Brasil (SANTOS, 2007). Um dos principais fatores de degradação da Caatinga ocorreu e tem ocorrido com o pastejo e, muitas vezes, com o sobrepastejo em fundos de pastos, por animais domésticos (EMBRAPA, 2000).

Várias espécies arbóreas, dentre elas genótipos de umbu-cajazeiras, vêm sendo eliminadas, gradativamente, reduzindo seu patrimônio genético (SOUZA, 2001; CARVALHO et al., 2002). Diante da importância da umbu-cajazeira como recurso genético, é necessário conservar seu germoplasma remanescente, visando assegurar sua exploração racional e contínua disponibilidade às futuras gerações, com equilíbrio ambiental (GIACOMETTI, 1993). Portanto, um dos grandes desafios para a preservação dos recursos genéticos de espécies vegetais do semiárido é a estratégia de definição de locais de amostragem, tamanho das amostras e formas de conservação, tanto *in situ* (áreas de preservação ambiental, parques e fazendas), como *ex situ* (bancos de germoplasma) e *in vitro* (coleções de sementes em câmaras frias) (SANTOS, 2007).

Neste contexto, a análise da variabilidade genética de espécies nativas, como a umbu-cajazeira, passou a ter um papel de destaque na definição de

estratégias de conservação e manejo de populações naturais (RIBEIRO & RODRIGUES, 2006). Sua descrição e distribuição são fundamentais ao estabelecimento de medidas visando à conservação eficiente (MOURA, 2005), como também no que concerne à obtenção de variabilidade genética suficiente para a imposição de processos seletivos que efetivamente resultem em ganhos genéticos significativos (BERNARDO, 2002).

Os marcadores moleculares permitem compreender e organizar a variabilidade genética de um programa de melhoramento de forma única, acessando a variabilidade em nível de DNA, sem os inconvenientes de influências do meio ambiente, contribuindo no processo de caracterização e seleção de genótipos superiores (MILACH, 1998). Neste aspecto, um marcador molecular com grande potencial para a aplicação em programas de melhoramento genético é o ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) (ZIETKIEWICZ et al., 1994), que se baseia na amplificação de regiões entre sequências microssatélites adjacentes do DNA via PCR (*Polymerase Chain Reaction*) e se destaca devido ao elevado grau de polimorfismo, reprodutibilidade e baixo custo (SALIMATH et al., 1995), além de não exigir um conhecimento prévio do genoma (GONZALÉZ et al., 2002).

Desde o ano 2000, a Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical vem realizando trabalhos de prospecção genética no estado da Bahia, em 24 municípios baianos, 18 dos quais situados em região semiárida (Amargosa, Andaraí, Boa Vista do Tupim, Cabaceiras do Paraguaçu, Iaçú, Ipirá, Itaberaba, Itaetê, Itatim, Milagres, Santa Bárbara, Santanópolis, Santa Teresinha, Santo Estevão, Serra Preta, Serrinha, Tanquinho de Feira e Utinga) e seis em região de clima subúmido (Coração de Maria, Cruz das Almas, Irará, Muritiba, São Gonçalo dos Campos e Sapeaçu), no sentido de localizar áreas de ocorrência, preservar, caracterizar e avaliar genótipos de umbu-cajazeira. Os materiais genéticos coletados foram georeferenciados, estabelecendo-se uma coleção *in situ* dos mesmos. Avaliações preliminares foram realizadas nos frutos desses indivíduos, no sentido de detectar genótipos superiores em relação a caracteres morfoagronômicos. Aqueles que se destacaram com base nessas análises, foram clonados e compõem o Banco Ativo de Germoplasma de Fruteiras Tropicais da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical - BAG Fruteiras Tropicais, atualmente com 26 acessos, sendo 20 de umbu-cajazeiras, constituindo o primeiro banco de germoplasma desta espécie no estado da Bahia. Recursos genéticos de *Spondias*

também estão disponíveis em bancos ativos de germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA-PE) e da Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba S.A. (EMEPA-PB).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar a divergência entre acessos de umbu-cajazeira pertencentes ao BAG Fruteiras Tropicais por meio de marcadores ISSR, a fim de quantificar sua variabilidade genética.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Virologia e Biologia Molecular da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Foram utilizados 17 acessos de umbu-cajazeiras pertencentes ao BAG Fruteiras Tropicais da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, em Cruz das Almas, Bahia (Tabela 1). A Figura 1 ilustra os locais de prospecção dos acessos de umbu-cajazeira no estado da Bahia.

Para a extração de DNA utilizou-se 150 mg de folhas coletadas a partir dos primórdios foliares das plantas. O protocolo adotado para extração foi adaptado a partir do método de CTAB (*Cetyltrimethylammonium Bromide*), no tampão de extração descrito por Ferreira & Grattapaglia (1998). A quantificação do DNA foi feita por meio de análise visual comparativa das amostras em gel de agarose 0,8% (p/v), corado com brometo de etídio, que foram diluídas em TE (10 mM Tris-HCl e 1 mM EDTA, pH 8) e padronizadas em 10 ng μL^{-1} .

Uma pré-seleção com 95 iniciadores ISSR foi realizada nos seis acessos de umbu-cajazeiras mais divergentes com base em algumas características físicas, químicas e físico-químicas de frutos. Os iniciadores que apresentaram bandas mais nítidas foram os selecionados, num total de 50. Após essa etapa, foram escolhidos os iniciadores que permitiram a obtenção de fragmentos de alta intensidade e a presença de polimorfismo, totalizando 25, os quais foram utilizados em todos os acessos estudados.

As reações de amplificação foram realizadas em volume de 15 μL , contendo: 12 ng de DNA, 20 mM de Tris-HCl (pH 8,4), 50 mM de KCl, 0,3 mM dos iniciadores, 1,5 ou 2,5 mM de MgCl_2 , 0,25 mM de dNTPs e 0,75 U de *Taq* DNA Polimerase. O programa de amplificação foi feito em termociclador Perkin Elmer modelo 9700 e constou de uma etapa a 94°C por 4 min, seguida de 35 ciclos de

94°C por 40 s, anelamento de 48, 50 ou 52°C por 40s e 72°C por 1 min, com extensão final de 72°C por 2 min. Os produtos da amplificação foram separados por eletroforese horizontal (120 V, por 3h30min) em gel de agarose 2,5% (p/v). Após a eletroforese, o gel foi exposto à luz ultravioleta e fotografado em equipamento de fotodocumentação Gel-Doc 1.000 (BioRad, CA, USA). Os produtos amplificados foram avaliados como ausência (0) e presença (1).

A dissimilaridade genética entre os 17 acessos foi calculada a partir do complemento do coeficiente de Jaccard. As dissimilaridades genéticas foram utilizadas para a análise de agrupamento dos acessos pelo método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Average*), por meio do software NTSYS-pc (ROHLF, 2000). Foi calculado o coeficiente de correlação cofenética (CCC) entre a matriz de dissimilaridades genéticas e a matriz dos valores cofenéticos, a fim de verificar a consistência do agrupamento. Valores de CCC acima de 0,8 indicam boa representatividade entre as distâncias (BUSSAD et al., 1990). A análise de reamostragem (*bootstrap*) também foi realizada a fim de verificar se o número de marcadores foi suficiente para determinar com precisão as estimativas de dissimilaridade genética entre os acessos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi constatada a existência de alta variabilidade genética entre os acessos de umbu-cajazeira avaliados.

Ressalta-se que até o momento, nenhum estudo foi publicado sobre o uso de marcadores moleculares ISSR para estimar a diversidade genética em umbu-cajazeira.

Os 25 iniciadores ISSR selecionados (Tabela 2) permitiram a obtenção de 249 fragmentos amplificados. O número de fragmentos por iniciador variou entre cinco e dezesseis, mas, em média, foram obtidos dez fragmentos. Dos 249 fragmentos, 80% geraram polimorfismo, com média de oito bandas polimórficas por iniciador.

Por meio da análise de reamostragens foi possível identificar que 160 bandas foram suficientes para uma precisa estimativa da divergência genética entre os 17 acessos de umbu-cajazeira (Figura 2). A correlação entre a matriz

considerando todas as 201 bandas e a matriz com 160 bandas foi de 0,98, com soma dos quadrados dos desvios (SQ_d) de 0,07 e valor de estresse (E) de 0,05. Kruskal (1964) relata que um valor de $E \leq 0,05$ é indicativo de uma excelente precisão nas estimativas.

Neste trabalho, a alta média de fragmentos por iniciador e a baixa porcentagem de iniciadores monomórficos evidenciaram a alta variabilidade genética intraespecífica dos acessos de umbu-cajazeira analisados e, também, mostrou a validação dos iniciadores ISSR testados, os quais serão utilizados na caracterização de genótipos e em estudos de estrutura de populações, a fim de direcionar o programa de conservação, manejo e melhoramento da espécie. A Figura 3 ilustra o padrão eletroforético obtido pelo iniciador TriCGA3'RC.

Oliveira et al. (2009), ao estudar a variabilidade genética de 13 genótipos de cajazeira (*S. mombin* L.), utilizando sete marcadores ISSR, identificaram de um total de 71 bandas, 43 fragmentos polimórficos, sendo que o número de bandas polimórficas por iniciador variou de quatro a nove. A média de dissimilaridade encontrada entre os genótipos avaliados foi de 92%, demonstrando alta variabilidade genética, que poderá ser explorada em trabalhos de melhoramento com esses genótipos de cajazeira.

As dissimilaridades genéticas, entre os 17 acessos de umbu-cajazeira, variaram de 0,247 a 0,665 (Tabela 3). Verificou-se que o menor grau de dissimilaridade deu-se entre os acessos 'Preciosa' e 'Suprema' (0,247), enquanto os mais distantes (máxima dissimilaridade) foram 'Esperança' e 'Pomar' (0,665).

O resultado da análise de correlação cofenética demonstrou uma associação de 83% entre as distâncias obtidas pelo coeficiente de Jaccard (matriz de dissimilaridade) e as representadas no dendrograma (matriz cofenética). O valor cofenético encontrado foi alto ($r = 0,83$, $P < 0.0001$, 10.000 permutações) e adequado, já que valores de $r \geq 0,56$ são considerados ideais, o que reflete boa concordância com os valores de similaridade genética (VAZ PATTO et al., 2004). Amorim et al. (2009), trabalhando com diplóides melhorados de banana (*Musa* spp.), encontraram um valor de correlação cofenético de 0,70 no dendrograma gerado pelo método UPGMA, o qual consideraram alto e adequado.

Por meio do dendrograma da divergência genética dos acessos de umbu-cajazeira, com base em marcadores ISSR (Figura 4), é possível observar a formação de cinco agrupamentos principais, tomando-se como ponto de corte a

distância média de 0,44: o **grupo I** com três acessos ['Suprema' (BFT001 – Itaberaba), 'Ouro' (BFT002 – Santa Teresinha) e 'Princesa' (BFT003 – laçu)]; o **grupo II** composto por dez acessos ['Esperança' (BFT004 – Itaberaba), 'Pomar' (BFT005 – laçu), 'Primavera I' (BFT007 – Tanquinho de Feira), 'Primavera II' (BFT008 – Tanquinho de Feira), 'Pingo de mel' (BFT009 - Santa Bárbara), 'Aurora' (BFT006 – Cruz das Almas), 'Favo de mel' (BFT011 – Itaberaba), 'Boa Vista' (BFT013 – Boa Vista do Tupim), 'Preciosa' (BFT012 – Itaberaba), 'Monte Castelo' (BFT 14 – Itaberaba)]; o **grupo III** formado por um acesso ['Santa Bárbara' (BFT010 – Santa Bárbara)]; o **grupo IV** com um acesso ['Gigante de Santa Bárbara' (BFT020 – Itaberaba)] e o **grupo V** com dois acessos ['Tendas'(BFT021 - Cabaceiras do Paraguaçu) e 'Brandão' (BFT022 – Itaberaba)].

Esses resultados refletem a alta variabilidade genética dos acessos estudados, tanto intra como entre grupos. Estudos de diversidade sugerem que há uma tendência em germoplasma de plantas arbóreas e arbustivas, alógamas ou autógamas, com alta taxa de alogamia, apresentar alto polimorfismo (OLIVEIRA et al., 2007).

Lira Júnior et al. (2008), ao estudar a variabilidade genética de um banco de germoplasma de cajá-umbuzeiro na Zona da Mata de Pernambuco, através da eletroforese de isoenzimas, concluíram que a maioria dos genótipos apresentou alta similaridade genética, possivelmente devido ao alto grau de parentesco constatado, recomendando novas introduções no Banco Ativo de Germoplasma de Cajá-umbuzeiro da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária.

Dessa forma, há a possibilidade de se obter ganhos genéticos significativos com o emprego de alguns dos acessos do BAG Fruteiras Tropicais em futuros programas de melhoramento. Tem sido reportada na literatura a possibilidade de espécies tradicionalmente multiplicadas via assexual apresentarem-se mais uniformes em localidades próximas, desde quando genótipos com características superiores passam a ser cultivados de forma preferencial pelos agricultores, sendo difundidos, chegando a dominar em determinadas localidades. No entanto, mesmo em áreas próximas constata-se a existência de considerável diversidade que não deve ser apenas reflexo de efeito ambiental, mas de origem genética, provavelmente em virtude da ocorrência de reprodução sexuada (CARVALHO, 2006; SOUZA, 2008), ou da manifestação de mutações naturais e a existência de híbridos entre as *Spondias* confirma as afirmações de Santos et al. (1999) que

mencionam a existência de plantas, em condições naturais, apresentando caracteres intermediários entre algumas espécies do gênero, o que indica não apenas a viabilidade de cruzamentos naturais, mas também a presença de fracas barreiras de incompatibilidade dentro do gênero (SOUZA, 2008).

O fato da umbu-cajazeira ser uma frutífera ainda em domesticação explica a elevada variabilidade genética existente entre os acessos, o que possibilita a identificação de genótipos com boa possibilidade de exploração comercial, assim como em programas de melhoramento genético. Contudo, torna-se necessário ampliar a área de coleta e aumentar o número de genótipos prospectados a fim de se obter informações em relação aos mecanismos evolutivos e ecológicos envolvidos, como seleção natural e fluxo gênico, de forma a se entender a dinâmica populacional desta espécie, ainda pouco estudada, maximizando a escolha de genótipos contrastantes que serão utilizados em programas de melhoramento e, também, auxiliando na definição de estratégias de manutenção e conservação da espécie, principalmente na escolha dos indivíduos e das áreas de preservação *in situ*.

CONCLUSÕES

Existe variabilidade genética entre os acessos de umbu-cajazeira presentes no BAG Fruteiras Tropicais, que pode ser explorada para conservação e melhoramento da espécie, visto que não foram observados acessos com alta similaridade genética, que poderiam representar duplicatas.

Os marcadores ISSR demonstram eficiência na detecção de polimorfismos moleculares em umbu-cajazeira, revelando alta variabilidade genética entre acessos, podendo ser usados com sucesso na caracterização molecular de germoplasma e em futuros trabalhos de conservação e melhoramento dessa frutífera.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM, E. P.; LESSA, L. S.; LEDO, C. A. da S.; AMORIM, V. B. de O.; REIS, R. V. dos ; SANTOS-SEREJO, J. A. dos; SILVA, S. de O. e. Caracterização

agronômica e molecular de genótipos diplóides melhorados de bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n.1, p. 154-161, 2009.

BERNARDO, R. Breeding for quantitative traits in plants. Woodbury: **Stemma Press**, 2002, 360 p.

BUSSAD, W. de O.; MIAZAKI, E. S.; ANDRADE, D. F. **Introdução à análise de agrupamentos**. São Paulo: ABE, 1990. 105 p.

CARVALHO, P. C. L. de. **Variabilidade morfológica, avaliação agronômica, filogenia e citogenética em *Spondias* (Anacardiaceae) no nordeste do Brasil**. 2006. 155 p. Tese (Docência em Botânica). Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2006.

CARVALHO, P. C. L. de; SOARES FILHO, W. dos S.; RITZINGER, R.; CARVALHO, J. A. B. S. Conservação de Germoplasma de Fruteiras Tropicais com a participação do agricultor. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.1, p. 277-281, abr. 2002.

CARVALHO, P. C. L. de; RITZINGER, R.; SOARES FILHO, W. dos S.; LEDO, C. A. da S. Características morfológicas, físicas e químicas de frutos de populações de umbu-cajazeira no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.1, p. 140-147, mar. 2008.

EMBRAPA SEMI-ÁRIDO. II Plano Diretor Embrapa Semi-Árido 2000-2003. Petrolina, PE, 2000. 55 p.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares**. 3. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. p. 220.

GIACOMETTI, D. G. Recursos genéticos de fruteiras nativas do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS. 1992, Cruz das Almas-BA. **Anais...** Cruz das Almas: Embrapa-CNPMPF, p. 13-27, 1993.

GONZÁLEZ, A., COULSON, M.; BRETTELL, R. Development of DNA markers (ISSRs) in mango. **Acta Horticulturae**, v. 575, p. 139-143, 2002.

KRUSKAL, J.B. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a no metric hypothesis. **Psychometrika**, Williamsburg, v. 29, n. 1, p. 1-27, 1964.

LIRA JÚNIOR, J. S. de; MUSSER, R. dos S.; LEDERMAN, I. E.; MARTINS, L. S. S. Variabilidade entre genótipos de um banco de germoplasma de cajá-umbuzeiro (*Spondias* spp.) na zona da Mata de Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v.3, n.2, p. 116-120, 2008.

MILACH, S. C. K. Marcadores de DNA. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. Brasília, v. 1, n. 5, p. 14 – 17, 1998.

MOURA, M. C. O. **Distribuição da variabilidade genética em populações naturais de *Eremanthus erythropappus* (DC) MacLeish por isoenzimas e RAPD**. 2005. 165 p. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OLIVEIRA, F. I. C. de; CAVALCANTI, J. J. VASCONCELOS; SOUZA, F. X. de; BERTINI, C. H. C. de M.; LIMA, E. N. Variabilidade genética de genótipos de cajazeira identificada por marcadores ISSR. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 5., 2009, Guarapari. O melhoramento e os novos cenários da agricultura: **anais**. Vitória: Incaper, 2009. [Incaper. Documentos, 011). 01 CD-ROM.

OLIVEIRA, M. S. P.; AMORIM, E. P.; SANTOS, G. B.; FERREIRA, D. F. Diversidade genética entre acessos de açazeiro baseada em marcadores RAPD. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1645-1653, 2007.

RIBEIRO, R. A.; RODRIGUES, F. M. Genética da conservação em espécies vegetais do cerrado. **Revista Ciências Médicas Biológicas**, Salvador, v. 5, n. 3, p. 253-260, set./dez.2006.

RITZINGER, R.; SOARES FILHO, W. dos S.; CARVALHO, P.C.L. de. Evaluation of umbu-caja germplasm in the state of Bahia, Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** 8: 181-186, 2008.

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.

SANTOS, C. A. F.; NASCIMENTO, C. E. de S.; ARAÚJO, F. P. de. **Avaliação do umbuzeiro como porta-enxerto de algumas espécies do gênero *Spondias***. Petrolina: Embrapa-CPTSA, 1999. 5 p. (EMBRAPA-CPTSA, Pesquisa em Andamento, 91).

SANTOS, C. A. F. **Zoneamento agroecológico do nordeste e mapas de vegetação como ferramentas para a prospecção e conservação de recursos genéticos vegetais**. Petrolina, EMBRAPA SEMI-ÁRIDO, 2007. 1ª ed. 24 p. (Embrapa-SEMI-ÁRIDO. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 73).

SILVA, L. R. da. **Qualidade e atividade antioxidante de frutos de genótipos de umbu-cajazeiras (*Spondias* sp.) oriundos da microrregião de Iguatu, CE**. 2008. 135 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Paraíba, Paraíba.

SOUZA, F. X. de. Propagação das *Spondias* e alternativas para clonagem da cajazeira. In: LEDERMAN, I.E.; LIRA JÚNIOR, J.S.; SILVA JUNIOR, J.F. de. (Ed.). ***Spondias* no Brasil: umbu, cajá e espécies afins**. Recife: Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA/UFRPE, 2008. p. 97-107.

SOUZA, V. A. B. Perspectivas do Melhoramento de Espécies Nativas do Nordeste Brasileiro. In: Congresso Brasileiro de Melhoramento Genético de Plantas, 1, 2001, Goiânia-GO. **Resumo** 25, EMBRAPA Meio-Norte, Teresina-PI, 2001.

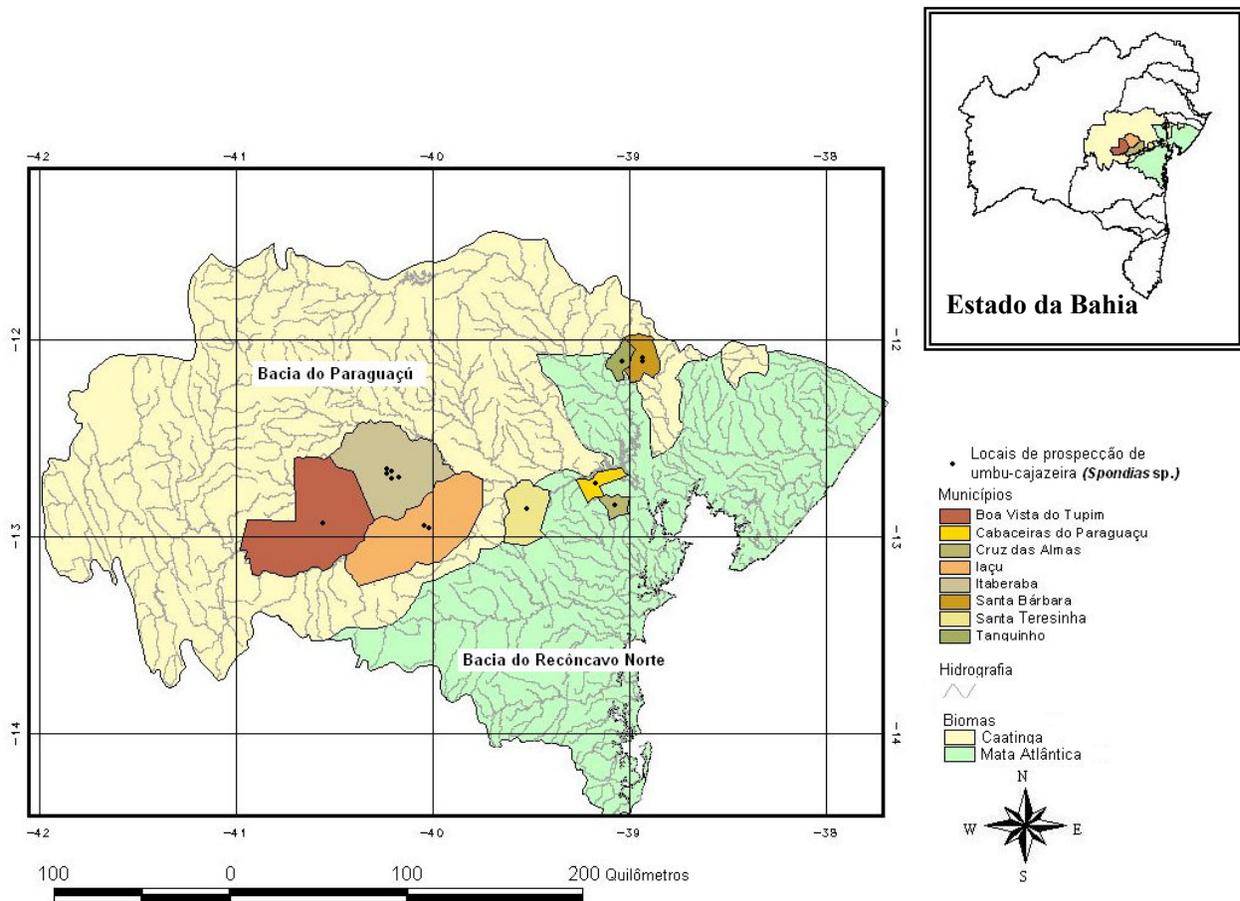
VAZ PATTO, M.C.; SATOVIC, Z.; PÊGO, S.; FEVEREIRO, P. Assessing the genetic diversity of Portuguese maize germplasm using microsatellite markers. **Euphytica**, v.137, p. 63-72, 2004.

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

Tabela 1. Acessos de umbu-cajazeira (*Spondias* sp.) utilizados, pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de Fruteiras Tropicais da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Cruz das Almas-BA, 2009.

Nº	Acesso	Código	Procedência (BA)	Longitude	Latitude
1	Suprema	BFT001	Itaberaba	40°12'04,3"W	12°27'28,8"S
2	Ouro	BFT002	Santa Teresinha	39°31'14,2"W	12°40'0,40"S
3	Princesa	BFT003	Iaçu	39°52'15,0"W	12°43'32,1"S
4	Esperança	BFT004	Itaberaba	40°18'32,1"W	12°31'01,5"S
5	Pomar	BFT005	Iaçu	39°52'03,7"W	12°44'05,6"S
6	Aurora	BFT006	Cruz das Almas	39°09'25,9"W	12°39'17,1"S
7	Primavera I	BFT007	Tanquinho de Feira	39°08'37,7"W	11°57'47,7"S
8	Primavera II	BFT008	Tanquinho de Feira	39°08'38,7"W	11°57'50,4"S
9	Pingo de mel	BFT009	Santa Bárbara	38°58'28,8"W	11°52'46,1"S
10	Santa Bárbara	BFT010	Santa Bárbara	38°58'16,5"W	11°57'43"S
11	Favo de mel	BFT011	Itaberaba	40°08'46,2"W	12°27'13,7"S
12	Preciosa	BFT012	Itaberaba	40°15'47,2"W	12°30'13,8"S
13	Boa Vista	BFT013	Boa Vista do Tupim	40°34'16,2"W	12°38'22,4"S
14	Monte Castelo	BFT014	Itaberaba	40°16'55,3"W	12°31'12,7"S
15	Gigante de Sta Bárbara	BFT020	Santa Bárbara	38°58'16,5"W	11°57'43"S
16	Tendas	BFT021	Cabaceiras do Paraguaçu	39°12'49,3"W	12°35'59,4"S
17	Brandão	BFT022	Itaberaba	40°18'26,8"W	12°32'0,08"S

FONTE: Dados da pesquisa.



Elaborado por Dr^a Claudia Bloisi Vaz Sampaio
UFRB/CETEC

Figura 1. Locais de prospecção de acessos de umbu-cajazeira (*Spondias* sp.) no estado da Bahia. Cruz das Almas - BA, 2009.

Tabela 2. Iniciadores ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) utilizados na amplificação de acessos de umbu-cajazeira (*Spondias* sp.), com suas respectivas temperaturas de anelamento (T_m), número total de bandas com alta intensidade (NTB), número de bandas polimórficas (NBP) e percentagem de polimorfismo. Cruz das Almas-BA, 2009.

Nome do Iniciador	Sequência do Iniciador*	T_m (°C)	NTB	NBP	Polimorfismo (%)
DiCA3'YG	(CA) ₈ YG	48	8	5	63
DiCA5'CR	CR(CA) ₈	50	12	6	50
DiCA5'CY	CY(CA) ₈	50	10	6	60
DiGA3'C	(GA) ₈ C	50	11	9	82
DiGA3'RC	(GA) ₈ RC	50	10	10	100
DiGA3'T	(GA) ₈ T	50	14	14	100
DiGA5'CR	CR(GA) ₈	50	13	12	92
TriCAC3'RC	(CAC) ₅ RC	50	7	5	71
TriGTG	(GTG) ₅	50	6	4	67
TriGTG3'YC	(GTG) ₅ YC	52	8	6	75
TriGTG5'CY	CY(GTG) ₅	52	13	13	100
TriTGT3'RC	(TGT) ₅ RC	48	5	5	100
TriTGT5'CY	CY(TGT) ₅	50	10	10	100
TriAAC3'RC	(AAT) ₅ RC	48	12	7	58
TriAAG3'RC	(AAG) ₅ RC	48	7	7	100
TriATG3'RC	(ATG) ₅ RC	48	10	10	100
TriACA3'RC	(ACA) ₅ RC	48	11	9	82
TriAGG3'RC	(AGG) ₅ RC	52	16	14	88
TriTCA3'RC	(TCA) ₅ RC	50	13	12	92
TriTCT3'RC	(TCT) ₅ RC	50	7	6	86
TriTCC3'RC	(TCC) ₅ RC	50	7	3	43
TriTGA3'RC	(TGA) ₅ RC	50	12	8	67
TriCAT3'RC	(CAT) ₅ RC	50	8	7	88
TriCGA3'RC	(CGA) ₅ RC	50	8	5	63
TriGAA3'RC	(GAA) ₅ RC	50	11	8	73
TOTAL		-	249	201	-
MÉDIA		-	10	8	80

*R = A, G; Y = C, T

FONTE: Dados da pesquisa.

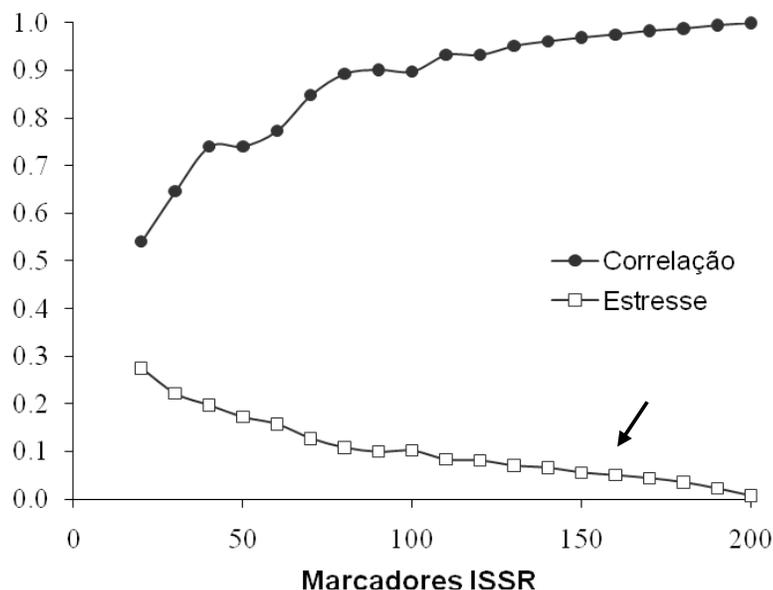


Figura 2. Análise de reamostragem para uma precisa estimativa da variabilidade genética em acessos de umbu-cajazeira (*Spondias* sp.), por meio de marcadores ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*). Cruz das Almas-BA, 2009.

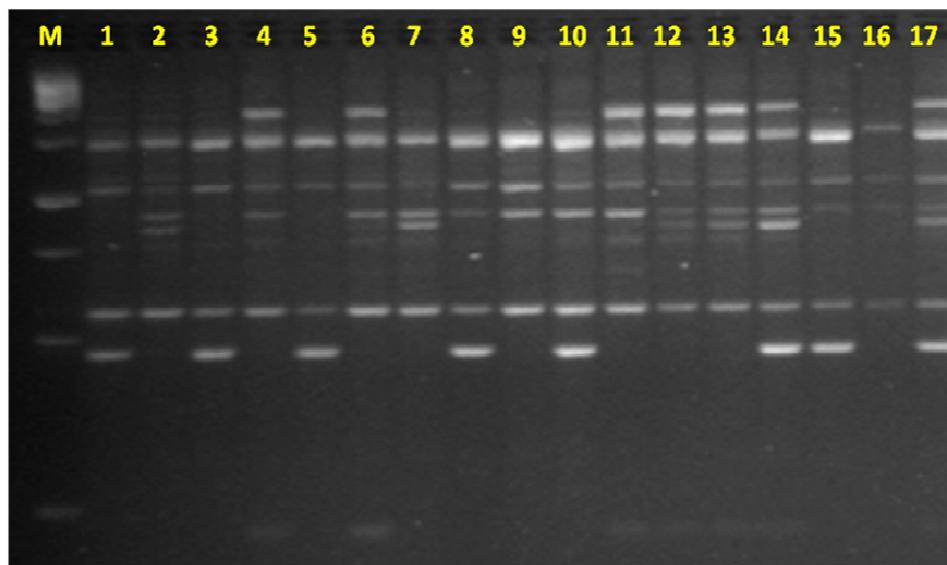


Figura 3 - Produtos da amplificação ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) de 17 acessos de umbu-cajazeira (*Spondias* sp.) gerados pelo iniciador TriCGA3'RC. M = marcador de peso molecular (Ladder 100 pb New England); 1= Suprema; 2= Ouro; 3= Princesa; 4= Esperança; 5= Pomar; 6= Aurora; 7= Primavera I; 8= Primavera II; 9= Pingo de mel; 10= Santa Bárbara; 11= Favo de mel; 12= Preciosa; 13= Boa Vista; 14= Monte Castelo; 15= Gigante de Santa Bárbara; 16= Tendias e 17= Brandão. Cruz das Almas-BA, 2009.

Tabela 3. Matriz de dissimilaridade genética entre 17 acessos de umbu-cajazeira (*Spondias* sp.), obtida a partir do complemento do coeficiente de Jaccard, com base nos marcadores moleculares ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*). Cruz das Almas-BA, 2009.

Acessos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	-																
2	0,640	-															
3	0,569	0,662	-														
4	0,430	0,514	0,528	-													
5	0,514	0,519	0,633	0,665	-												
6	0,325	0,401	0,399	0,587	0,565	-											
7	0,390	0,435	0,444	0,627	0,655	0,560	-										
8	0,380	0,418	0,452	0,570	0,580	0,528	0,639	-									
9	0,370	0,419	0,466	0,571	0,507	0,482	0,599	0,623	-								
10	0,313	0,366	0,342	0,384	0,404	0,341	0,384	0,504	0,524	-							
11	0,348	0,398	0,342	0,548	0,473	0,467	0,442	0,531	0,552	0,508	-						
12	0,247	0,294	0,250	0,412	0,357	0,462	0,385	0,434	0,414	0,430	0,557	-					
13	0,393	0,389	0,385	0,494	0,446	0,448	0,444	0,483	0,523	0,430	0,567	0,536	-				
14	0,308	0,353	0,302	0,415	0,390	0,386	0,371	0,437	0,429	0,421	0,504	0,505	0,414	-			
15	0,359	0,340	0,370	0,417	0,393	0,350	0,383	0,458	0,463	0,391	0,448	0,347	0,450	0,431	-		
16	0,329	0,363	0,305	0,406	0,373	0,338	0,408	0,507	0,438	0,366	0,393	0,388	0,372	0,416	0,441	-	
17	0,338	0,364	0,340	0,434	0,383	0,378	0,429	0,399	0,419	0,296	0,374	0,344	0,343	0,479	0,409	0,500	-

1= Suprema; 2= Ouro; 3= Princesa; 4= Esperança; 5= Pomar; 6= Aurora; 7= Primavera I; 8= Primavera II; 9= Pingo de mel; 10= Santa Bárbara; 11= Favo de mel; 12= Preciosa; 13= Boa Vista; 14= Monte Castelo; 15= Gigante de Santa Bárbara; 16= Tendas e 17= Brandão.

FONTE: Dados da pesquisa.

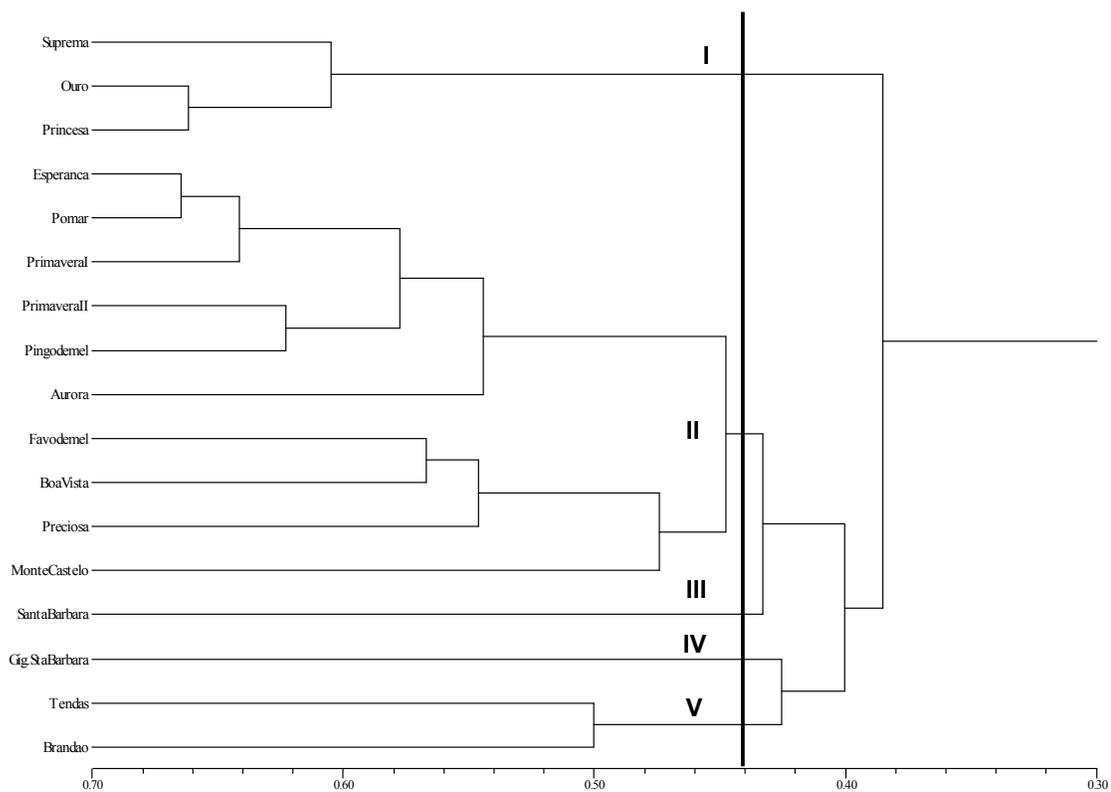


Figura 4. Dendrograma representativo da divergência genética entre os 17 acessos de umbu-cajazeira (*Spondias* sp.), obtido pelo método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*), utilizando o complemento aritmético do índice de Jaccard como medida de dissimilaridade, com base em marcadores ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*). Cruz das Almas-BA, 2009. Valor cofenético = 0,83.

CAPÍTULO 2

ANÁLISE SIMULTÂNEA DE CARACTERES QUANTITATIVOS E QUALITATIVOS EM ACESSOS DE UMBU-CAJAZEIRA ¹

¹Artigo a ser submetido ao Comitê Editorial do periódico científico Pesquisa Agropecuária Brasileira

ANÁLISE SIMULTÂNEA DE CARACTERES QUANTITATIVOS E QUALITATIVOS EM ACESSOS DE UMBU-CAJAZEIRA

Autora: Ivonilda Barbosa Brito Santana

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa

Co-orientador: Dr. Walter dos Santos Soares Filho

Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo Franco Cunha Moreira

RESUMO: A análise simultânea de caracteres qualitativos e quantitativos tem sido apontada como uma ferramenta útil na estimativa da diversidade genética entre acessos de uma coleção de germoplasma. O objetivo deste trabalho foi avaliar frutos coletados de oito plantas matrizes de umbu-cajazeira, durante a safra de março a junho de 2009, representantes dos seguintes acessos presentes no Banco Ativo de Germoplasma de Fruteiras Tropicais da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical: 'Aurora', 'Esperança', 'Favo de Mel', 'Preciosa', 'Princesa', 'Santa Bárbara', 'Suprema' e 'Tendas', usando 15 caracteres morfoagronômicos e 201 marcas polimórficas de ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*). O algoritmo de Gower foi usado para gerar a matriz de distância genética e como método de agrupamento o UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*). A similaridade genética média foi de 0,50 e oscilou de 0,24 (acessos 'Favo de mel' e 'Preciosa') a 0,54 ('Preciosa' e 'Princesa' e 'Preciosa' e 'Tendas'), o que mostra a existência de ampla variabilidade genética entre os acessos. Assumindo-se como ponto de corte no dendrograma a distância média, foi formado um único grupo. A divergência genética observada pelos resultados neste estudo pode ser utilizada para nortear futuras ações de programa de melhoramento genético desta fruteira. O uso do algoritmo de Gower foi eficiente em promover um maior conhecimento da diversidade genética entre os acessos de umbu-cajazeira.

Palavras-chave: *Spondias* sp., análise univariada e multivariada, algoritmo de Gower.

COMBINED ANALYSIS OF QUANTITATIVE AND QUALITATIVE TRAITS IN UMBU-CAJAZEIRA ACCESSIONS

Author: Ivonilda Barbosa Brito Santana

Adviser: DSc. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa

Co-adviser: DSc. Walter dos Santos Soares Filho

Co-adviser: DSc. Ricardo Franco Cunha Moreira

ABSTRACT: The combined analysis of qualitative and quantitative traits has been pointed out as an useful tool in the estimate of the genetic diversity among accessions of a germplasm collection. The objective of this work was to evaluate fruits collected from eight umbu-cajazeira genotypes, in the period of March to June of 2009, relative to the following accessions of the Active Germplasm Bank of Tropical Fruits of Embrapa & Tropical Fruits: 'Aurora', 'Esperança', 'Favo de Mel', 'Preciosa', 'Princesa', 'Santa Bárbara', 'Suprema' and 'Tendas', using 15 morphoagronomic traits and 201 polymorphic ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) bands. The algorithm of Gower was used to generate the genetic distance matrix and UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) was used as the grouping method. The mean genetic similarity was 0.50, ranging from 0.24 (accessions 'Favo de Mel' and 'Preciosa') to 0.54 ('Preciosa' and 'Princesa', and 'Preciosa' and 'Tendas'), what shows the existence of wide genetic variability among the accessions. Assuming as the cutting point in the dendrogram the medium distance, a single group was formed. The genetic divergence observed through the results of this study can be used to direct future actions regarding the breeding program of this fruit crop. The use of the algorithm of Gower was efficient in promoting a larger knowledge of the genetic diversity among the umbu-cajazeira accessions.

Key-words: *Spondias* sp., univariate and multivariate analysis, algorithm of Gower.

INTRODUÇÃO

O Brasil está entre os três maiores produtores de frutas do mundo, tendo em seu território imensas áreas com aptidão edafoclimática para fruticultura (IBGE, 2008). Cada hectare plantado com fruticultura gera em média dois empregos diretos (EMBRAPA, 2008).

O Nordeste brasileiro destaca-se como grande produtor de frutos tropicais, incluindo frutas nativas, em virtude das condições climáticas prevalentes. A fruticultura, nessa região, constitui atividade econômica bastante promissora, devido ao sabor e aroma peculiar dos frutos nela produzidos e à sua enorme diversificação (SILVA, 2008). Dentro deste contexto, destacam-se as espécies do gênero *Spondias* (L.), como umbuzeiro (*S. tuberosa* Arruda Câmara) e cajazeira (*S. mombin* L.) e, particularmente, a umbu-cajazeira (*Spondias* sp.), cujo reconhecimento como fruteira de expressão econômica é fato recente, já ultrapassando, porém, as fronteiras nordestinas, dado que é comercializada em grandes capitais brasileiras de outras regiões (OLIVEIRA et al., 2002).

Pertencente à família Anacardiaceae, a umbu-cajazeira é uma frutífera nativa do Nordeste brasileiro, ainda em fase de domesticação, que apresenta acentuada variabilidade em função das variações morfológicas entre frutos (PIRES, 1990; SANTOS, 1996; LIMA et al., 2002, CARVALHO et al., 2008). Ocorre espontaneamente no semiárido brasileiro (SILVA JÚNIOR et al., 2004) e seus frutos apresentam ampla perspectiva de aproveitamento agroindustrial, porém como sua exploração acontece apenas de forma extrativista, estes são preferencialmente consumidos in natura ou na forma de suco, picolé e sorvete (LIMA et al., 2002; CARVALHO et al., 2008; RITZINGER et al., 2008).

O consumidor de fruta fresca procura por frutos de boa aparência, sendo o tamanho e a coloração fatores importantes (ANDRADE et al., 2008). O consumo de frutas na alimentação humana tem deixado de ser somente um prazer, sendo hoje considerada uma necessidade, dadas as boas características que as

mesmas têm para a saúde e bem-estar do homem. As frutas são excelentes fontes de energia, carboidratos, vitaminas, minerais e produtos com propriedades bioativas, além de proporcionarem variedade e sabor à dieta, constituindo parte importante desta (ALVES et al., 2006).

O melhoramento genético de espécies frutíferas visa ao atendimento de exigências do mercado consumidor, principalmente no que tange à qualidade de frutos (BRAGA et al., 2006). Portanto, a caracterização físico-química de frutos de acessos de espécies frutíferas é de inquestionável valor na fase de seu pré-melhoramento genético, visto que são quantificadas propriedades organolépticas de frutos de genótipos com potencial de uso *per se* bem como em futuros programas de melhoramento genético (SANTANA et al., 2009). Caracterização agrônômica, física e físico-química de frutos, aliada com a estimativa da variabilidade genética usando marcadores moleculares é fundamental para a seleção de parentais para cruzamentos, a fim de explorar sua heterose e desenvolver cultivares superiores (MATTOS et al., 2010).

Implantado em 2004, O Banco Ativo de Germoplasma de Fruteiras Tropicais da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical (BAG Fruteiras Tropicais), conta atualmente com 26 acessos, sendo 20 de umbu-cajazeiras, constituindo o primeiro banco de germoplasma desta espécie no estado da Bahia. Os materiais coletados através da prospecção genética no estado da Bahia, em 24 municípios, 18 dos quais situados em região semiárida (Amargosa, Andaraí, Boa Vista do Tupim, Cabaceiras do Paraguaçu, Iaçú, Ipirá, Itaberaba, Itaetê, Itatim, Milagres, Santa Bárbara, Santanópolis, Santa Teresinha, Santo Estevão, Serra Preta, Serrinha, Tanquinho de Feira e Utinga) e seis em região de clima subúmido (Coração de Maria, Cruz das Almas, Irará, Muritiba, São Gonçalo dos Campos e Sapeaçu), foram georeferenciados, estabelecendo-se uma coleção *in situ* dos mesmos. Avaliações preliminares foram realizadas nos frutos desses indivíduos, no sentido de detectar genótipos superiores em relação a caracteres morfoagronômicos. Aqueles que se destacaram a partir dessas análises foram clonados, compondo o BAG Fruteiras Tropicais. Recursos genéticos de *Spondias* também estão disponíveis em bancos ativos de germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA-PE) e da Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba S.A. (EMEPA-PB).

Na avaliação da variabilidade genética existente nos bancos de germoplasma, análises multivariadas são instrumentos úteis para a caracterização de germoplasma (CRUZ et al., 2004). Gower (1971) propôs uma metodologia para análise combinada de variáveis quantitativas e qualitativas, de modo que valores da matriz de distância fiquem compreendidos entre 0 e 1, necessitando da padronização desses dados.

O objetivo deste trabalho foi promover a análise simultânea de caracteres quantitativos (agronômicos) e qualitativos (morfológicos e moleculares) em acessos de umbu-cajazeira.

MATERIAIS E MÉTODOS

CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fisiologia Vegetal e Pós-colheita e no Laboratório de Virologia e Biologia Molecular da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, no período de março a junho de 2009.

A Unidade está localizada no município de Cruz das Almas - Bahia, nas coordenadas geográficas 12°40'39" de latitude S e 39°06'23" de longitude O, numa altitude de 226 metros. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é caracterizado por uma zona de transição entre as zonas Am (clima quente e úmido com pequena estação seca) e Aw (clima quente e úmido com chuvas de verão). A precipitação pluvial média anual é de 1.224 mm, temperatura média anual de 24°C e umidade relativa do ar de 80% (EMBRAPA, 2008).

MATERIAL EXPERIMENTAL

As avaliações foram realizadas em frutos coletados de oito plantas matrizes de umbu-cajazeira, representantes dos seguintes acessos presentes no BAG Fruteiras Tropicais: 'Aurora', 'Esperança', 'Favo de Mel', 'Preciosa', 'Princesa', 'Santa Bárbara', 'Suprema' e 'Tendas' (Tabela 1). Esses acessos foram selecionados a partir de prospecções feitas no estado da Bahia (Figura 1), particularmente em áreas do semiárido, conforme mencionado na parte introdutória deste capítulo. Tal seleção baseou-se em avaliações preliminares realizadas em anos anteriores (2000-2008).

Os frutos, em média de 50, foram coletados diretamente no solo, no estágio maduro, íntegros, sendo acondicionados em sacos plásticos e identificados, colocados em caixas de isopor e posteriormente levados ao Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, onde foram mantidos congelados em freezer doméstico a aproximadamente -20°C até o momento das análises.

CONDUÇÃO DOS EXPERIMENTOS

- Delineamento e unidade experimental

O experimento foi conduzido observando o delineamento inteiramente casualizado, com oito tratamentos (acessos) e três repetições constituídas de dez frutos cada, selecionados a partir de amostras de 50 frutos, conforme mencionado.

- Caracterização dos frutos

Os frutos foram caracterizados a partir dos seguintes parâmetros físicos, químicos e físico-químicos: diâmetros longitudinal e transversal, com auxílio de paquímetro digital, expresso em cm; massa média de frutos (g), determinada em balança digital; teor de sólidos solúveis totais (SST), determinado por leitura em refratômetro em amostras de suco extraído de frutos, expresso $^{\circ}\text{Brix}$; acidez total titulável (ATT), obtida por titulação com NaOH 0,1N, expressa em % de ácido cítrico, conforme técnica do Instituto Adolfo Lutz (1985); relação SST/ATT (*ratio*), obtida mediante divisão entre essas duas determinações (BRASIL, 2005); pH, quantificado com o uso de peagômetro. Realizaram-se, ainda, observações nos frutos empregando-se, para todos os caracteres, uma escala de notas, utilizando os critérios estabelecidos na lista de Descritores de Frutas Tropicais do International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR, 1980), atual International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI). Essas observações compreenderam: projeção no ápice, onde 1 = ausência e 2 = presença; forma, onde 1 = piriforme, 2 = ovalado e 3 = redondo; relação comprimento/diâmetro, obtida pela razão entre o diâmetro longitudinal médio e o diâmetro transversal médio, onde 3 = baixa (inferior a 1,0), 5 = média (valor maior que 1,0 e menor que 1,5) e 7 = alta (superior a 1,5); tamanho, obtido pela mensuração com paquímetro digital. Os frutos foram medidos em cm no seu maior comprimento, desde a inserção do pedúnculo até a extremidade oposta, onde 3 = pequeno (inferior a 3,5 cm), 5 =

médio (valor compreendido na faixa de 3,5 a 4,0 cm) e 7 = grande (superior a 4,0 cm); coloração do epicarpo do fruto maduro, sendo a cor principal do epicarpo do fruto maduro verificada por observação visual comparativa com uma escala de cores (PANTONE, conforme Eiseman & Hebert, 1990), compreendendo: amarelo ouro (13-0940/0942), amarelo (13-0840), amarelo claro (13-0727) e cor de palha (12-0714); massa dos frutos, determinada em balança eletrônica e expressa em grama, sendo dez frutos de cada repetição tomados aleatoriamente de uma amostra de 30, onde as quantidades de massa foram consideradas como: 3 = pequena (inferior a 20,0 g), 5 = média (valor maior que 20,0 g e menor que 30,0 g) e 7 = grande (superior a 30,0 g); níveis de acidez, onde 3 = baixo (inferior a 1,0), 5 = médio (valor maior que 1,0 e menor que 2,0) e 7 = alto (superior a 2,0); relação sólidos solúveis totais/acidez total titulável (*ratio*), onde 3 = baixo (inferior a 5,0), 5 = médio (valor maior que 5,0 e menor que 10,0) e 7 = alto (superior a 10,0).

- Análise ISSR

Para as análises moleculares foram usados 25 *primers* ISSR. O DNA genômico foi extraído de folhas jovens coletadas a partir dos primórdios foliares das plantas, usando o método CTAB (*Cethyltrimethylammonium* Bromide), no tampão de extração descrito por Ferreira & Grattapaglia (1998). As reações de amplificação foram realizadas em volume de 15 µL, contendo: 12 ng de DNA, 20 mM de Tris-HCl (pH 8,4), 50 mM de KCl, 0,3 mM dos iniciadores, 1,5 ou 2,5 mM de MgCl₂, 0,25 mM de dNTPs e 0,75 U de *Taq* DNA Polimerase. O programa de amplificação foi feito em termociclador Perkin Elmer modelo 9700 e constou de uma etapa a 94°C por 4 min, seguida de 35 ciclos de 94°C por 40 s, anelamento de 48, 50 ou 52°C por 40s e 72°C por 1 min, com extensão final de 72°C por 2 min. Os produtos da amplificação foram separados por eletroforese horizontal (120 V, por 3h30min) em gel de agarose 2,5% (p/v). Após a eletroforese, o gel foi exposto à luz ultravioleta e fotografado em equipamento de fotodocumentação Gel-Doc 1.000 (BioRad, CA, USA).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados quantitativos foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Com base nesses

dados uma matriz de dissimilaridade foi obtida usando a distância euclidiana média para realizar a análise da contribuição relativa dos caracteres, pelo critério de Singh (1981). Em relação aos dados morfológicos dos frutos, estes foram avaliados em termos percentuais para cada variação do caracter. Para os dados moleculares foram atribuídos valores de 0 (ausência) e 1 (presença), em função dos fragmentos amplificados. Foram consideradas as bandas polimórficas claramente visíveis e excluídas as bandas monomórficas.

Para quantificar, em conjunto, a variabilidade existente entre todos os dados (quantitativos e qualitativos), estes foram submetidos à análise multivariada por meio do método aglomerativo - UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*). As distâncias genéticas foram estimadas pelo algoritmo de

Gower (1971), definido como:
$$D_{ij} = \frac{\sum_{k=1}^p W_{ijk} * d_{ijk}}{\sum_{k=1}^p W_{ijk}}$$
 onde, W_{ijk} : distribuição da

variável $k=1,2,\dots,p$, para a distância total entre os indivíduos i e j ; d_{ijk} : corresponde ao peso dado para a comparação ijk com '1' para as comparações válidas e '0' para os inválidos, o qual possibilitou a construção do dendrograma hierárquico. Foi calculado o coeficiente de correlação cofenético a fim de verificar a consistência do agrupamento.

Para análise dos dados, quantitativos e qualitativos, foram utilizados os recursos computacionais dos programas Genes (CRUZ, 2008), NTSYS-pc 2.1 (ROLFH, 2000) e R® 2.6.2 (<http://www.r-project.org>).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

AVALIAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS

Pela análise de variância (Tabela 2), constata-se que há diferenças significativas entre as médias dos oito acessos de umbu-cajazeira em todos os sete caracteres avaliados. O coeficiente de variação oscilou entre 2,89% (diâmetro longitudinal) a 9,35% (diâmetro transversal), demonstrando existir boa precisão experimental na avaliação de todos os caracteres considerados.

Na Tabela 3, podem ser observadas as diferenças e o agrupamento entre as médias, realizadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade, obtidas para

os parâmetros físicos, químicos e físico-químicos, indicando que a variabilidade genética entre os acessos é de grande magnitude.

Verificou-se que o diâmetro longitudinal dos frutos variou de 3,27 cm (acesso 'Tendas') a 4,52 cm (acesso 'Aurora'), formando quatro grupos. Com relação ao diâmetro transversal, a variação foi de 2,76 cm (acesso 'Tendas') a 3,50 cm (acesso 'Esperança'), com a formação de um único grupo. O diâmetro longitudinal (ou comprimento) e o transversal representam, em conjunto, o tamanho e a sua relação dá ideia da forma do fruto (CHITARRA & CHITARRA, 2005). Essa informação é relevante no que concerne às operações de processamento, porque facilitam os cortes, descascamentos ou misturas para obtenção de produtos uniformes. Cabe salientar que frutos muito grandes ou muito pequenos dificultam a extração da polpa em despoldadeiras. Além disso, essas medidas, comprimento e diâmetro, são de grande utilidade para frutos destinados ao consumo, já que é um importante fator de aceitação pelo consumidor. Noronha (2000), analisando a caracterização física de frutos de umbu-cajá do Baixo Jaguaribe (CE) e de Assu-Mossoró (RN), obteve valores de diâmetro longitudinal (comprimento) variando de 28,9 mm a 29,6 mm e para o diâmetro transversal de 29,1 mm a 29,6 mm. Fonseca et al. (2001), caracterizando frutos de umbu-cajazeira na localidade de Muritiba - Ba, obteve valores para o comprimento variando de 3,4 cm a 4,4 cm. Ritzinger et al. (2001), analisando frutos provenientes do estado da Bahia, encontraram valores médios, para os diâmetros longitudinal e transversal, de 4,8 cm e 3,2 cm, respectivamente. Carvalho et al. (2008), caracterizando frutos de populações de umbu-cajazeira no estado da Bahia, encontraram valores médios de comprimento igual a 3,8 cm e de diâmetro transversal igual a 3,1 cm. Os resultados relativos à variável diâmetro, longitudinal e transversal, encontrados neste estudo são próximos aos obtidos para os frutos caracterizados no estado da Bahia.

Com relação aos sólidos solúveis totais (SST), todos os genótipos estão dentro do padrão de identidade e qualidade de polpa (PIQ) de cajá (*S. mombin* L.), usada como referência frente à inexistência de legislação específica para polpa de umbu-cajá, pois apresentaram valores acima do estabelecido pela legislação (mínimo de 9,00 °Brix) do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1999), com variação de 10,3 °Brix (acesso 'Tendas') a 13,7 °Brix (acesso 'Aurora'), formando dois agrupamentos. Carvalho et al. (2008),

trabalhando com frutos também colhidos no chão, relataram valores cuja amplitude varia de 7,2 °Brix a 14,0 °Brix; Lira Júnior et al. (2008) encontraram valores oscilando entre 14,9 °Brix e 17,9 °Brix e Ritzinger et al. (2008), analisando frutos também colhidos no chão, obtiveram valores entre 9,2 °Brix e 15 °Brix. A mensuração dos sólidos solúveis nos frutos é uma estimativa da quantidade de açúcares presentes neles. Estes podem estar na forma livre ou combinada e são responsáveis pela doçura, pelo aroma, por meio de balanço com os ácidos, pela cor atrativa, como derivados de antocianidinas (glicosídeos), e pela textura, quando combinados aos polissacarídeos estruturais (CHITARRA&CHITARRA, 2005). Levando-se em consideração esta variável, todos os frutos dos acessos avaliados são promissores para a produção de sucos, pois, conforme Lima et al. (2002), frutos destinados para este fim tecnológico devem possuir teores de sólidos solúveis totais superiores a 8,0%.

Para a acidez titulável (ATT), o valor médio obtido foi de 1,36% em ácido cítrico, com variação de 0,25% (acesso 'Esperança') a 2,07% (acesso 'Tendas'), portanto uma grande variação foi observada, alocando os acessos em cinco grupos. A acidez total é um dos principais métodos usados para medir acidez de frutos, determinada pelo percentual de ácidos orgânicos (KRAMER, 1973). Em outros estudos de caracterização de polpas de umbu-cajá, foram encontrados valores percentuais semelhantes aos obtidos no presente estudo, a saber: Lima et al. (2002), obtiveram um valor médio de 1,91%, com variação de 1,55% a 2,40% em ácido cítrico; Silva Júnior et al. (2004) apresentaram acidez total média de 1,20%, com variação de 0,74% a 1,49% em ácido cítrico; Carvalho et al. (2008), relataram um valor médio de 1,70%, com variação de 0,90% a 2,66% em ácido cítrico e Silva (2008) encontrou um valor médio de 1,66%, com variação de 1,25% a 2,02% em ácido cítrico. Lima et al. (2002) e Pinto et al. (2003), consideram que genótipos que apresentem valores para acidez total titulável (ATT) acima de 1,0% em ácido cítrico são os de maior interesse para a agroindústria, tendo em vista não haver necessidade da adição de ácido cítrico para conservação da polpa, procedimento utilizado para amenizar o desenvolvimento de microrganismos. Todos os acessos, com exceção do 'Esperança', apresentaram percentagens de ácido cítrico acima do valor mínimo estabelecido para cajá (BRASIL, 1999).

Os resultados obtidos para a relação sólidos solúveis totais / acidez total titulável (SST / ATT), mostram uma grande variação entre os acessos,

verificando-se amplitude de valores entre 5,0 (acesso 'Tendas') e 12,8 (acesso 'Esperança'), formando cinco agrupamentos. O valor médio obtido para esta variável foi de 8,4. A relação SST / ATT indica o índice de palatabilidade, o equilíbrio entre os sabores doce e ácido de um determinado material vegetal. Quanto maior for essa relação, maior será o grau de doçura (SILVA, 2008). Confrontando-se com outros valores na literatura, têm-se: Silva Júnior et al. (2004), estudando frutos de umbu-cajazeira, encontrou valores que variaram de 4,6 e 12,9 com valor médio de 11,1; Carvalho et al. (2008), obtiveram valores cuja amplitude foi de 3,7 a 10,6, com valor médio de 6,1 e Silva (2008) relatou valores obtidos de 7,0 e 12,9, com valor médio de 10,3. Dos oito acessos de umbu-cajazeiras analisados, apenas um apresentou relação de SST / ATT acima do valor mínimo (10,0) estabelecido pelo PIQ (BRASIL, 1999) para cajá, que foi o 'Esperança'. Do ponto de vista do mercado consumidor de frutas frescas e/ou processadas, a relação STT / ATT elevada é desejável, então o acesso citado é o mais adequado para esta condição.

Analisando-se os dados obtidos da variável pH, percebe-se uma discreta variação entre os acessos, oscilando de 2,38 ('Tendas') a 3,03 ('Esperança'), originando três grupos. O valor médio encontrado foi de 2,74. O pH é um fator 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 (GOMES, 1996; GAVA, 1999). Os acessos analisados neste estudo apresentaram valores médios de pH acima do estabelecido pelo PIQ (BRASIL, 1999) para polpa de cajá, que é de 2,2. No entanto, comparando-se com outros trabalhos de caracterização de frutos de umbu-cajá, os valores obtidos para esta variável são muito semelhantes, a saber: Silva Júnior et al. (2004) apresentaram valores que variaram de 1,75 a 2,57, com valor médio de 2,20; Carvalho et al. (2008) encontraram valores de pH variando de 2,4 a 2,8, com valor médio de 2,8 e Silva (2008) obteve valores oscilando entre 2,60 e 2,93, apresentando, em geral, média de 2,76. Na industrialização de frutas em calda e cristalizada, geleias e doces em massa, o pH é etapa fundamental. O suco ou a polpa das frutas devem possuir pH inferior a 4,5 para evitar tratamento térmico sob pressão e minimizar o uso de acidulantes (JACKIX, 1988). Sendo assim, esta espécie apresenta excelente potencial para industrialização de seus frutos.

Com relação à contribuição de cada caracter analisado na divergência genética entre os acessos, quanto aos parâmetros físicos, químicos e físico-químicos dos frutos (Tabela 4), segundo o critério de Singh (1981), observa-se a maior influência da massa (56,32%), seguido pelo diâmetro longitudinal (33,56%). Em estudos de divergência genética entre um grupo de genótipos é recomendável que a variância acumulada nos dois primeiros componentes principais exceda a 80% (CRUZ & REGAZZI, 1997). Assim, os resultados obtidos neste estudo estão acima do esperado (89,87%). Amorim et al. (2009), caracterizando 11 diplóides melhorados de bananeira desenvolvidos pelo Programa de Melhoramento Genético da Bananeira da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, relataram que quatro características (altura da planta, número de pencas, diâmetro do pseudocaule e número de frutos) contribuíram com grande parte da divergência observada (73,14%). Castellen et al. (2007), caracterizando 68 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mamão da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, por meio de análise multivariada, detectaram que os componentes principais 1 (coloração do pecíolo) e 2 (comprimento da folha) explicaram a maior parte da variação genética total disponível (67,80%).

AVALIAÇÕES MORFOLÓGICAS DOS FRUTOS

Os dados referentes à caracterização morfológica de frutos estão apresentados na Tabela 5. Os resultados obtidos a partir das análises das variáveis evidenciam a existência de ampla variabilidade genética.

O caráter formato de fruto (FOF) apresentou seis acessos com a forma piriforme, ou seja, 75% do total de indivíduos. Houve dois indivíduos com a forma ovalada. Não foi identificado entre os acessos estudados, o formato redondo.

No que se refere ao tamanho do fruto (TMF), não foi encontrado acesso com o tipo pequeno. Metade dos acessos apresentou o tamanho grande (50%) e a outra parte (50%) apresentou o tamanho médio.

O tamanho e a forma são importantes nas operações de processamento, porque facilitam os cortes, descascamentos ou misturas para obtenção de produtos uniformes. Os produtos de maior tamanho são mais econômicos; entretanto, em alguns casos, são preferidos os de tamanho médio, pelas características de aroma e sabor, por adaptação aos equipamentos ou pelo conteúdo de suco (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

Com relação à coloração do epicarpo do fruto maduro (CEF) foi verificada a maior diversidade entre os acessos. A cor predominante foi amarelo ouro (50%), seguida por amarelo claro (25%), amarelo (12,5%) e cor de palha (12,5%). As normas de classificação, padronização e comercialização de frutas adotadas pelo “Programa Brasileiro para Melhoria dos Padrões Comerciais e Embalagens de Hortigranjeiros”, consideram que a cor tem papel importante, no índice de padrão, para determinar a qualidade do produto (LIMA et al., 2002).

Para a relação comprimento/diâmetro (RCD) foi observado que 87,5% dos frutos apresentaram valor dentro de uma faixa de maiores que 1,0 e menores que 1,5 estabelecida como média, enquanto que 12,5% estavam numa escala considerada grande (valores acima de 1,5). Esta relação é indicadora do formato do fruto, que é mais arredondado à medida que este quociente aproxima-se de 1. As indústrias dão maior preferência aos frutos arredondados, por facilitarem as operações de limpeza e processamento (OLIVEIRA et al., 1999).

Em relação ao caráter projeção no ápice do fruto (PAF), grande parte dos frutos de umbu-cajá apresentou a presença de projeção no ápice (75%). Este caráter está diretamente relacionado com o formato do fruto. Frutos classificados como piriformes apresentam esta projeção no ápice.

Em relação ao nível de acidez (NAF) foram encontradas as três características: baixo (12,5%), médio (75,0%) e alto (12,5%).

No que se refere à relação sólidos solúveis totais / acidez total titulável (RSA) foram verificados dois tipos, a saber: 87,5% apresentaram uma relação considerada média (valor maior que 5 e menor que 10) e 12,5% estavam acima do valor de 10. Percebe-se claramente que os frutos de umbu-cajazeira têm excelentes perspectivas para aproveitamento no mercado de frutas frescas e processadas, como já mencionado anteriormente, quando das inferências nas análises físico-químicas.

Para o descritor massa dos frutos (MDF) foram observados os três tipos de variação. Metade dos acessos (50%) apresentou frutos de massa média (faixa de valores maiores que 20,0 g e menores que 30,0 g), 25% foram considerados como produtores de frutos com massa pequena (valor inferior a 20,0 g) e 25% relacionados a frutos com massa grande (valor superior a 30,0 g). Vale ressaltar que para o presente trabalho foi adotado uma escala de valores que discriminasse as diferentes variações observadas para o descritor massa dos

frutos. A massa média do fruto foi obtida pela razão entre a amostra de dez frutos e o número de frutos. De acordo a classificação apresentada por Bosco et al. (1999), frutos de cajá considerados grandes são aqueles que apresentam massa superior a 15 g; médios, entre 12 e 15 g; e pequenos, inferior a 12 g. Assim, os frutos analisados neste estudo apresentaram massa média (22,5 g) variando de 15,6 g (acesso 'Tendas') a 30,7 g (acesso 'Aurora'). Assim, considerando a classificação proposta por Bosco, os frutos de umbu-cajá avaliados neste trabalho seriam classificados como grandes. No entanto, optou-se por apresentar uma escala própria para melhor discriminar as variações encontradas no presente estudo, conforme mencionado anteriormente. Outros autores relataram valores para a massa dos frutos de umbu-cajá, variando de 11,1 g a 27,2 g (CARVALHO et al., 2008; NORONHA, 2000; SILVA, 2008; SILVA JÚNIOR, 2004). Sabe-se que a massa média de frutos é uma característica importante para o mercado de frutas frescas, uma vez que os frutos maior massa são também os de maiores tamanhos, tornando-se mais atrativos para os consumidores (SILVA, 2008).

Na Tabela 6 é apresentada a matriz de distância genética baseada no algoritmo de Gower (1971). A distância de Gower é uma distância métrica que tem valores entre $d = 0$ (máxima similaridade) e $d = 1$ (mínima similaridade) (TSIVELIKAS et al., 2009). As maiores distâncias genéticas ocorreram entre os acessos 'Princesa' e 'Tendas' (0,5380) e 'Princesa' e 'Preciosa' (0,5378), indicando que esses acessos foram os mais divergentes em relação aos caracteres estudados. Os acessos mais semelhantes foram 'Preciosa' e 'Favo de mel' (0,2432).

O dendrograma obtido a partir dos caracteres quantitativos (parâmetros físicos, químicos e físico-químicos dos frutos) e qualitativos (morfológicos e moleculares) é apresentado na Figura 2, por meio do método de agrupamento UPGMA. O valor cofenético (CCC) foi alto ($r = 0,84$) e adequado, já que $r \geq 0,56$ é considerado ideal, refletindo uma boa concordância com os valores de dissimilaridade genética (VAZ PATTO et al., 2004). O valor médio da matriz de distância genética (0,50) possibilitou a definição de um único grupo de diversidade genética. Ainda assim, é evidente a presença de considerável variabilidade entre os acessos avaliados, sendo possível a formação de dois subgrupos: o **subgrupo A** formado por seis acessos ('Aurora' e 'Esperança', 'Favo de mel' e 'Preciosa',

ficando dispersos ('Santa Bárbara' e 'Tendas') e o **subgrupo B**, formado por dois acessos ('Princesa' e 'Suprema').

No subgrupo A, embora seis acessos estejam agrupados juntos (75%), é possível observar considerável variabilidade genética dentro do mesmo, a saber: 'Aurora' e 'Esperança' formam um *cluster*, coletados em municípios distantes um do outro, Cruz das Almas e Itaberaba, respectivamente, estão juntos por apresentarem frutos grandes, com mesmo formato, estão classificados na mesma faixa de relação comprimento/diâmetro dos frutos e na caracterização molecular com ISSR, ficaram no mesmo grupo; 'Favo de mel' e 'Peciosa', formam outro *cluster*, ambos coletados no município de Itaberaba, ainda que em locais distintos, apresentaram médias de parâmetros físico-químicos (diâmetro transversal, sólidos solúveis totais, acidez total titulável e pH) e caracteres morfológicos dos frutos (formato, tamanho, cor, presença de ápice) semelhantes, sendo alocados pelo Teste de Tukey a 5% no mesmo agrupamento (variáveis físico-químicas) e na análise conjunta dos dados apresentaram máxima similaridade (0,247); 'Santa Bárbara' - coletado no município de Santa Bárbara e 'Tendas' - coletado no município de Cabaceiras do Paraguaçu, formam *clusters* distintos. Na caracterização agrônômica, o acesso 'Tendas' apresentou os menores valores para massa dos frutos, *ratio* e pH. Na caracterização morfológica dos frutos, estes dois acessos ('Santa Bárbara' e 'Tendas') foram os únicos que não apresentaram a presença de ápice nos frutos e o formato de fruto ovalado, sendo que os demais acessos possuem formato piriforme.

Os acessos presentes no subgrupo B foram coletados em locais diferentes, 'Princesa' - laço e 'Suprema' - Itaberaba. Na análise com ISSR, esses acessos foram agrupados no mesmo *cluster* e separados dos demais acessos do subgrupo A; ambos apresentam frutos de tamanho grande, baixa relação sólidos solúveis totais/acidez total titulável (*ratio*), mesmo formato de fruto e mesma faixa de nível de acidez.

A análise simultânea dos caracteres quantitativos e qualitativos, usando a distância de Gower como medida de dissimilaridade foi muito eficiente em avaliar a divergência genética entre os acessos de umbu-cajazeira. As informações produzidas neste estudo serão importantes para nortear futuras ações de programa de melhoramento genética desta frutífera. Resultados semelhantes foram encontrados por outros autores trabalhando com diferentes culturas (LEDO

et al., 2009a; LEDO et al., 2009b; MATTOS et al., 2010; OLIVEIRA et. al, 2009; TSIVELIKAS et al., 2009).

CONCLUSÕES

De modo geral, as variações encontradas para os parâmetros morfométricos e físico-químicos avaliados neste estudo são semelhantes aos resultados alcançados em outras publicações envolvendo o fruto de umbu-cajá.

Os resultados da análise simultânea dos caracteres quantitativos e qualitativos mostram que os acessos mais divergentes são 'Preciosa', 'Princesa' e 'Tendas', que podem ser utilizados em futuros trabalhos de hibridação em programa de melhoramento genético da umbu-cajazeira.

O uso do algoritmo de Gower é eficiente em promover um maior conhecimento da diversidade genética entre os acessos de umbu-cajazeira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; RUFINO, M. do S. M. Prospecção da atividade antioxidante e de compostos com propriedades funcionais em frutas tropicais. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 19, 2006, Cabo Frio. **Palestras e resumos...** Cabo Frio-RJ:SBF/UENF/UFRuralRJ. 2006. p.133-141.

AMORIM, E. P.; LESSA, L. S.; LEDO, C. A. da S.; AMORIM, V. B. de O.; REIS, R. V. dos; SANTOS-SEREJO, J. A. dos; SILVA, S. de O. e. Caracterização agrônômica e molecular de genótipos diplóides melhorados de bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 1, p. 154-161, 2009.

ANDRADE, R. A. de A.; LEMOS, E. G. de M.; MARTINS, A. B. G.; DE PAULA, R. C.; PITTA JUNIOR, J. L. Caracterização morfológica e química de frutos de rambutan. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 4. p. 958-963. 2008.

BOSCO, J.; AGUIAR FILHO, S. P. D. de; BARROS, R. V. Banco ativo de germoplasma de cajá no Estado da Paraíba. In: WOKSHOP PARA CURADORES

DE BANCO DE GERMOPLASMA DE ESPÉCIES FRUTÍFERAS, 1997, Brasília, DF. **Anais**. Brasília, DF: Embrapa-Cenargen, 1999. p. 80-85.

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, v. 28, n. 2, p. 284-288, 2006.

BRASIL. Instrução Normativa nº 122, de 10 de setembro de 1999. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Brasília-DF, 13 set. 1999. Seção 1, p.72-76.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição. **Guia alimentar para a população brasileira**. Brasília: MS, 2005. 236 p.

CARVALHO, P. C. L. de; RITZINGER, R.; SOARES FILHO, W. dos S.; LEDO, C. A. da S. Características morfológicas, físicas e químicas de frutos de populações de umbu-cajazeira no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.1, p.140-147, mar. 2008.

CASTELLEN, M. da S.; LEDO, C. A. da S.; OLIVEIRA, E. J. de; MONTEIRO FILHO, L. S.; DANTAS, J. L. L. Caracterização de acessos do Banco Ativo de Mamão por meio de análise multivariada. **Magistra**, Cruz das Almas-BA, v. 19, n. 4, p. 299-303, out./dez., 2007.

CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.

CRUZ, C. D. **Programa genes: análise multivariada e simulação**. Viçosa: UFV, 2008. 175 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, J. A. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 1997. 390 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, J. A.; CARNEIRO, P. C. S. Divergência genética. In: CRUZ, C. D.; REGAZZI, J. A.; CARNEIRO, P. C. S. (Ed.). **Modelos biométricos**

aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, 2004. v. 1, Cap. 8, p. 377-413.

EISEMAN, L.; HERBERT, L. **The pantone book of color.** New York: Harry N. Abrams, 1990. 160 p.

EMBRAPA. Centro de Mandioca e Fruticultura Tropical da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em: <http://www.cnpmf.embrapa.br/index.php?menu=1&p=a_unidadelocalizacao.php&menu=1> Acesso em: 27 jan. 2008.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares.** 3. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. p. 220.

FONSECA, A. A. O; SILVA, J. A.; LORDELO, L. S. Caracterização química e físico-química de frutos de umbu-cajá (*Spondia sp*) cultivados em Muritiba - BA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 8., 2001, Ilhéus. **Anais...** Ilhéus: Sociedade Brasileira de Fisiologia Vegetal, 2001. CD ROM.

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

GOMES, J. C. **Análise de alimentos.** Viçosa: UFV, 1996. 126 p.

GOWER, J. C., A general coefficient of similarity and some of its properties. **Biometrics**, v. 27, p. 857-874, 1971.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTADÍSTICA. Produção Agrícola. Disponível em: www.ibge.gov.br, acessado em: 15 ago. 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos.** 3. ed. São Paulo, 1985. v. 1, 533 p.

IPGRI. **Tropical Fruit Descriptor** . Rome: IPGRI. 1980. 14 p.

JACKIX, M. H. **Doces, geléias e frutas em caldas: (teórico e prático).** Campinas, SP: Ed. da UNICAMP; São Paulo: Icone, 1988. 172 p.

KRAMER, A. **Fruits and Vegetables**. In: KRAMER, A.; TWIGG, B.A. Quality Control for the Food Industry. Connecticut: Avi Publishing Company, 1973. v. 2, p.157-227.

LEDO, C. A. da S.; GONÇALVES, L. S. A.; SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D. Análise de agrupamento utilizando variáveis quantitativas e qualitativas para o estudo da diversidade genética em acessos de abacaxizeiro. In: Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 5, 2009, Guarapari. **Anais...** Vitória: Incaper, 2009a.

LEDO, C. A. da S.; TAVARES FILHO, L. F. de Q.; OLIVEIRA, M. M. de; SILVEIRA, T. C. da; SANTOS, A. S.; ALVES, A. A. C.; GONÇALVES, L. S. A. Análise de agrupamento utilizando variáveis quantitativas e qualitativas para o estudo da diversidade genética em genótipos de mandioca silvestre. In: Congresso Brasileiro de Mandioca, 13, 2009, Botucatu. **Anais...** Botucatu : Unesp, 2009b.

LIMA, E. D. P. A.; LIMA, C. A. A.; ALDRIGUE, M. L.; GONDIM, P. S. Caracterização física e química dos frutos da umbu-cajazeira (*Spondias* spp.) em cinco estádios de maturação, da polpa e néctar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 338-343, 2002.

LIRA JÚNIOR, J. S. de; BEZERRA, J. E. F.; LEDERMAN, I. E.; MOURA, R. J. M. de. Recursos genéticos de *Spondias* em Pernambuco: cajazeira, cirigueleira e cajá-umbuzeiro. In: LEDERMAN, I.E.; LIRA JÚNIOR, J.S.; SILVA JUNIOR, J.F. de. (Ed.). **Spondias no Brasil: umbu, cajá e espécies afins**. Recife: Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA/UFRPE, 2008. p. 80-85.

MATTOS, L. A.; AMORIM, E. P.; AMORIM, V. B. de O.; KOHEN, K. de O.; LEDO, C. A. da S.; SILVA, S. de O. e. Agronomical and molecular characterization of banana germplasm. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, n.2, p.146-154, 2010.

NORONHA, M. A. S. de; CARDOSO, E. de A.; DIAS, N. da S. Características físico-químicas de frutos de umbu-cajá *Spondias* sp. provenientes dos pólos

Baixo-Jaguaribe (CE) e Assu-Mossoró (RN). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.2, n.2, p.91-96, 2000.

OLIVEIRA, E. J.; LIMA, D. S.; COSTA, J. L.; SANTOS, L. F.; MACHADO, M. D.; LUCENA, R. S.; MOTTA, T. B. N.; DANTAS, J. L. L.; LEDO, C. A. da S.; GONÇALVES, L. S. A. Análise de agrupamento em genótipos de mamoeiro utilizando caracteres morfo-agronômicos e moleculares simultaneamente. In: Congresso Brasileiro de melhoramento de Plantas, 5, 2009, Guarapari. **Anais**. Vitória: Incaper, 2009.

OLIVEIRA, M. do S. P. de; CARVALHO, J. E.U. de; NASCIMENTO, W. M. O. do; MÜLLER, CH. **Cultivo do açaizeiro visando à produção de frutos**. Belém, 2002. 51 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Circular Técnica, on line).

OLIVEIRA, M. E. B.; BASTOS, M. S. R.; FEITOSA, T; BRANCO, M. A. A. C.; SILVA, M. G. G. Avaliação de parâmetros de qualidade físico-químicos de polpas congeladas de acerola, cajá e caju. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 19, n. 3, set./dez., p.326-332, 1999.

PINTO, W. da. S.; DANTAS, A. C. V. L.; FONSECA, A. A. O.; LEDO, C. A. da S. L.; JESUS, S. C. de; CALAFANGE, P. L. P.; ANDRADE, E. M. Caracterização física, físico-química de frutos de genótipos de cajazeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 9, p. 1059-1066, set. 2003.

PIRES, M. G. M. **Estudo Taxonômico e Área de Ocorrência de Umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) no Estado de Pernambuco**. Brasil. Recife. UFRPE, 1990. 290 p. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade Federal Rural de Pernambuco.

R Development Core Team. R' a language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*. Vienna, Áustria. 2004. Disponível em <http://www.R-project.org>.

RITZINGER, R; SOARES FILHO, W. dos S.; CARVALHO, P. C .L. ; FOLEGATTI, M. I. da S.; MATSUURA, F. C. A. U.; CERQUEIRA, E. Q.; KISARI, R. G.; SILVA NETO, C. N. da. Caracterização e avaliação de germoplasma de umbu-cajazeira no Estado da Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE

PLANTAS, 1., 2001, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2001. CD ROM.

RITZINGER, R.; SOARES FILHO, W. dos S.; CARVALHO, P. C. L. de. Evaluation of umbu-caja germplasm in the state of Bahia, Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 8, p. 181-186, 2008.

ROHLF, F. J., *NTSYS pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*. Exeter Software, New York 2000.

SANTANA, I. B. B.; SOARES FILHO, W. dos S.; RITZINGER, R.; LEDO, C. A. da S.; COSTA, M. A. P. de C.; MOREIRA, R. F. C.; LUQUINE, L. S.; CRUZ, E. S. da. Análise da diversidade genética de acessos de umbu-cajazeira (*Spondias* spp.) mediante caracterização físico-química de frutos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 5., 2009, Guarapari. O melhoramento e os novos cenários da agricultura: **anais**. Vitória: Incaper, 2009. [Incaper. Documentos, 011). 01 CD-ROM.

SANTOS, G. M. **Caracterização de Frutos de Cajá (*Spondias mombim* L.) e Cajá-umbu (*Spondias* spp.) e Teores de NPK em Folhas e Frutos**. Areia: UFPB/CCA, 1996. 68 p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia). Universidade Federal da Paraíba.

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

SILVA, L. R. da. **Qualidade e atividade antioxidante de frutos de genótipos de umbu-cajazeiras (*Spondias* sp.) oriundos da microrregião de Iguatu, CE**. 2008. 135 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Paraíba, PB.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence . **The Indian Journal of Genetic and Plant Breeding**, v.41, p.237-245, 1981.

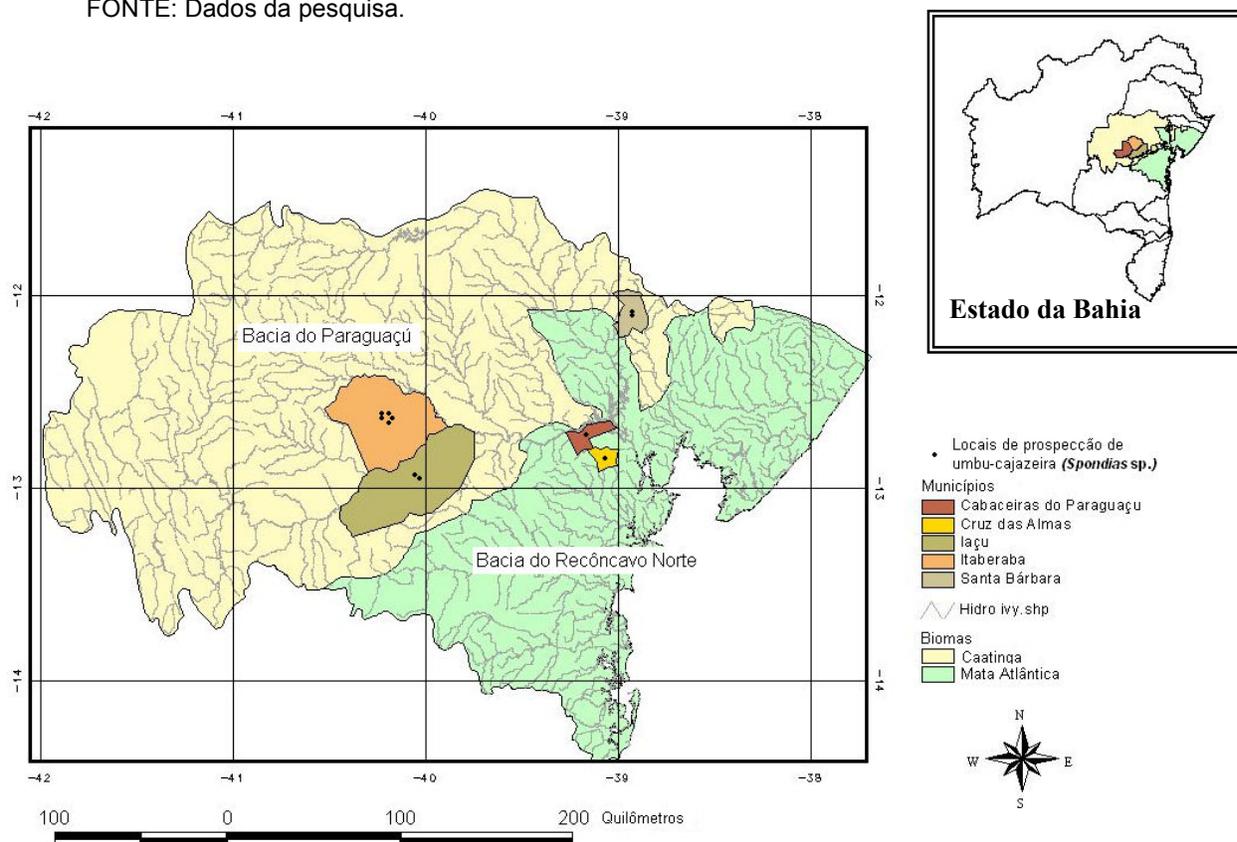
TSIVELIKAS, A. L.; KOUTITA, O.; ANASTASIADOU, A.; SKARACIS, G. N.; TRAKA-MAVRONA, E.; KOUTSIKA-SOTIROU, M. Description and Analysis of Genetic Diversity among Squash Accessions. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.52, n.2, pp. 271-283, March-April 2009.

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

Tabela 1. Acessos de umbu-cajazeiras (*Spondias* sp.) analisados. Cruz das Almas-BA, 2009.

Nº	Acesso	Código	Procedência (BA)	Longitude	Latitude
1	Aurora	BFT006	Cruz das Almas	39°09'25,9"W	12°39'17,1"S
2	Esperança	BFT004	Itaberaba	40°18'32,1"W	12°31'01,5"S
3	Favo de mel	BFT011	Itaberaba	40°08'46,2"W	12°27'13,7"S
4	Preciosa	BFT012	Itaberaba	40°15'47,2"W	12°30'13,8"S
5	Princesa	BFT003	Iaçu	39°52'15,0"W	12°43'32,1"S
6	Santa Bárbara	BFT010	Santa Bárbara	38°58'16,5"W	11°57'43"S
7	Suprema	BFT001	Itaberaba	40°12'04,3"W	12°27'28,8"S
8	Tendas	BFT021	Cabaceiras do Paraguaçu	39°12'49,3"W	12°35'59,4"S

FONTE: Dados da pesquisa.



Elaborado por Dr^a Claudia Bloisi Vaz Sampaio
UFRB/CETEC

Figura 1. Localização dos acessos de umbu-cajazeira (*Spondias* sp.) analisados. Cruz das Almas - BA, 2009.

Tabela 2. Resumo das análises de variância obtidas para os sete caracteres físicos, químicos e físico-químicos de frutos avaliados em oito acessos de umbu-cajeira (*Spondias* sp.). Cruz das Almas, 2009.

Caracteres	Quadrados médios		F (trat)	Média	CV (%)
	Acessos	Resíduo			
Massa	6628,6452	286,3301	23,15**	224,94	7,52
Diâmetro longitudinal	0,5241	0,0138	38,11**	4,06	2,89
Diâmetro transversal	0,2145	0,0849	2,53*	3,12	9,35
Sólidos solúveis totais	3,2752	0,3496	9,37**	11,22	5,27
Acidez total titulável	0,8834	0,0072	123,02**	1,36	6,24
Relação SST/ATT	15,8998	0,3583	44,38**	8,35	7,17
pH	0,1039	0,0075	13,86**	2,74	3,16

* e **, significativo a 5% e 1%, respectivamente; CV = coeficiente de variação

FONTE: Dados da pesquisa.

Tabela 3. Valores médios obtidos para caracteres físicos, químicos e físico-químicos de frutos de umbu-
cajazeira (*Spondias* sp.). Cruz das Almas-BA, 2009.

Acessos	Diâmetro longitudinal (cm)	Diâmetro transversal (cm)	Massa (g)	Sólidos Solúveis (°Brix)	Acidez Titulável (% ácido cítrico)	Relação SST/ATT	pH
Aurora	4,52 a	3,39 a	306,61 a	13,67 a	1,66 b	8,19 c	2,69 b
Esperança	4,31 ab	3,50 a	230,52 bcd	10,73 b	0,25 e	12,83 a	3,03 a
Favo de mel	3,89 c	2,94 a	198,03 de	10,93 b	1,23 cd	8,85 b	2,79 ab
Preciosa	4,00 bc	3,03 a	210,22 cd	10,67 b	1,34 cd	7,95 c	2,79 ab
Princesa	4,32 ab	2,86 a	189,84 de	10,97 b	1,14 d	9,67 b	2,87 ab
Santa Bárbara	3,76 c	3,29 a	248,54 bc	10,93 b	1,41 c	7,76 c	2,69 b
Suprema	4,41 a	3,17 a	260,07 ab	11,53 b	1,77 b	6,53 d	2,69 b
Tendas	3,27 d	2,76 a	155,65 e	10,33 b	2,07 a	5,00 e	2,38 c
MÉDIA	4,06	3,12	224,94	11,22	1,36	8,35	2,74
DMS	0,3317	0,8246	47,8706	1,6727	0,2397	1,6933	0,245
CV (%)	2,89	9,35	7,52	5,27	6,24	7,17	3,16

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade ($P \leq 0,05$); DMS = diferença mínima significativa; CV = coeficiente de variação.

Tabela 4. Estimativas dos autovalores associados aos componentes principais e de suas variâncias relativas e acumuladas, obtidas dos sete caracteres avaliados em oito acessos de umbu-cajazeira (*Spondias* sp.), com base no método de Singh (1981). Cruz das Almas-BA, 2009.

Caracteres	Autovalores (AV)	(AV) %	% Acumulada
Massa	3,942206	56,316831	56,316831
Diâmetro longitudinal	2,348901	33,555494	89,872325
Diâmetro transversal	0,512434	7,320441	97,192766
Sólidos solúveis totais	0,155504	2,221473	99,414239
Acidez total titulável	0,039796	0,568516	99,982755
Relação SST/ATT	0,001183	0,016896	99,999651
pH	0,000024	0,000349	100,0

FONTE: Dados da pesquisa.

Tabela 5. Notas visuais atribuídas aos caracteres morfométricos analisados nos frutos de acessos de umbu-cajazeira (*Spondias* sp.). Cruz das Almas-BA, 2009.

Acessos	FOF	TMF	CEF	RCD	PAF	NAF	RSA	MDF
Aurora	1	7	1	5	2	5	5	7
Esperança	1	7	4	5	2	3	7	5
Favo de mel	1	5	1	5	2	5	5	3
Preciosa	1	5	1	5	2	5	5	5
Princesa	1	7	2	7	2	5	5	3
Santa Bárbara	2	5	3	5	1	5	5	5
Suprema	1	7	1	5	2	5	5	5
Tendas	2	5	3	5	1	7	5	3

LEGENDA: **FOF** (forma do fruto): 1 – piriforme, 2 – ovalado, 3 – redondo, **TMF** (tamanho do fruto): 3 – pequeno (< 3,5cm), 5 – médio (≥ 3,5cm e ≤ 4,0cm), 7 – grande (> 4,0cm); **CEF** (cor do epicarpo do fruto maduro, conforme Eiseman & Hebert, 1990): 1 – amarelo ouro, 2 – amarelo, 3 – amarelo claro, 4 – cor de palha; **RCD** (relação comprimento/diâmetro do fruto): 3 – baixa (< 1,0), 5 – média (≥ 1,0 e ≤ 1,5), 7 – alta (> 1,5); **PAF** (projeção no ápice do fruto): 1 – ausente, 2 – presente; **NAF** (nível de acidez do fruto - % ácido cítrico): 3 – baixo (< 1,0); 5 – médio (≥ 1,0 e ≤ 2,0); 7 – alto (> 2,0); **RSA** (relação sólidos solúveis/acidez total titulável): 3 – baixa (< 5); 5 – média (≥ 5 e ≤ 10); 7 – alta (> 10); **MDF** (massa do fruto): 3 – pequena (< 20,0g), 5 – média (≥ 20,0g e ≤ 30,0g), 7 – grande (> 30,0g).

FONTE: Dados da pesquisa.

Tabela 6. Matriz de distância genética de Gower entre os acessos de umbu-cajazeira (*Spondias* sp.), com base nos caracteres quantitativos (físicos, químicos e físico-químicos de frutos) e qualitativos (morfológicos e moleculares) . Cruz das Almas-BA, 2009.

ACESSOS	Aurora	Esperança	Favo de mel	Preciosa	Princesa	Santa Bárbara	Suprema	Tendas
Aurora	-							
Esperança	0,3224	-						
Favo de mel	0,3619	0,3646	-					
Preciosa	0,3188	0,4472	0,2432	-				
Princesa	0,4409	0,3904	0,4990	0,5378	-			
Santa Bárbara	0,4548	0,5078	0,3114	0,3197	0,4817	-		
Suprema	0,4940	0,4819	0,4862	0,5215	0,2967	0,4922	-	
Tendas	0,4859	0,5110	0,4248	0,3786	0,5380	0,4075	0,5059	-

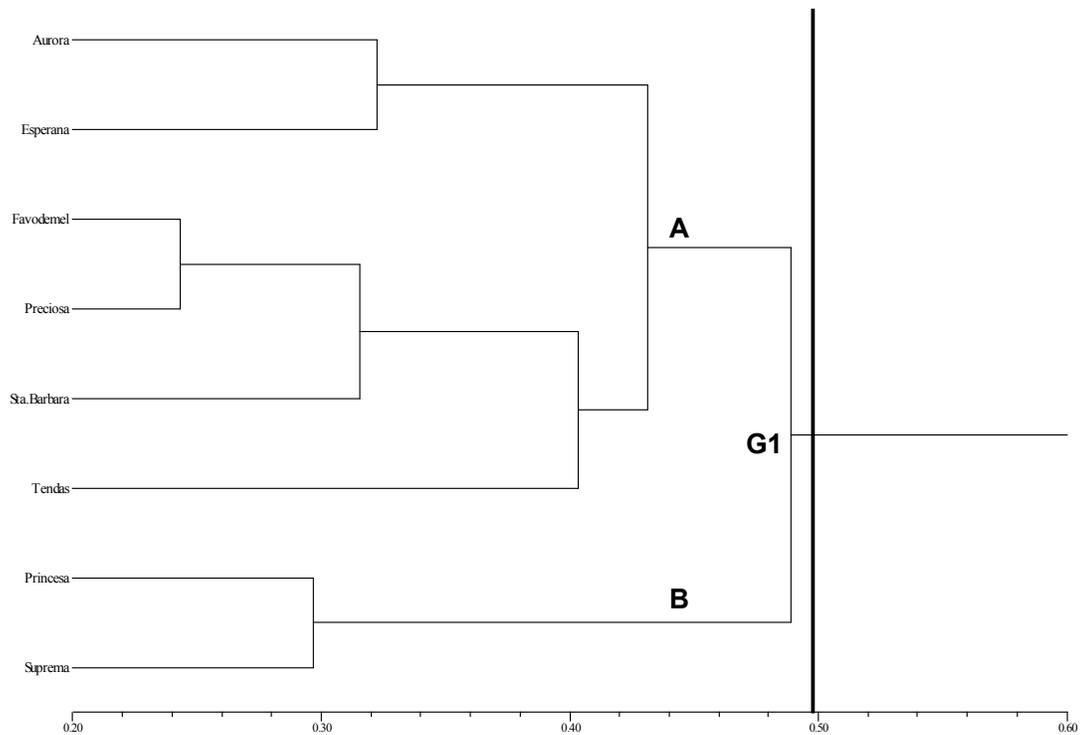


Figura 2. Dendrograma representativo da divergência genética entre oito acessos de umbu-cajazeira (*Spondias* sp.), obtido pelo método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*), utilizando a distância de Gower, com base em caracteres morfoagronômicos e moleculares. G1 = Grupo 1. Cruz das Almas - BA, 2009. Valor cofenético = 0,84.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de recursos genéticos tem viabilidade fundamentada na coleta, introdução, conservação e intercâmbio de acessos de uma dada espécie ou cultura, bem como em sua caracterização e avaliação. Enquanto a caracterização e avaliação possibilitam conhecer qualidades e potencialidades do germoplasma, a conservação oferece suporte aos trabalhos de melhoramento genético, viabiliza o intercâmbio de germoplasma e, especialmente, a preservação da variabilidade genética. Para que os recursos genéticos possam ser incorporados ao agronegócio é imprescindível que os mesmos sejam utilizados de forma mais dinâmica nos programas de melhoramento genético das diversas espécies. Neste contexto, a Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical tem se destacado em pesquisas na área de recursos genéticos e pré-melhoramento do germoplasma de *Spondias*, cabendo salientar que em 2004 foi implantado um Banco Ativo de Germoplasma de Fruteiras Tropicais, com predominância de acessos de umbu-cajeira, fruteira nativa do semiárido nordestino, que apresenta enorme potencial socioagroeconômico para a região.

Os resultados encontrados nesta pesquisa possibilitam as seguintes conclusões:

1) Com base na divergência genética associada a estudos de caracteres morfoagronômicos de grande interesse nesta cultura, os resultados permitem orientar a recomendação de materiais, a saber: os acessos 'Esperança' e 'Princesa' são adequados ao consumo in natura, por apresentarem baixa acidez e alto *ratio*; 'Santa Bárbara', 'Suprema' e 'Tendas', por possuírem alta acidez e coloração de fruto variando de amarelo-ouro ('Suprema') a amarelo-claro ('Santa Bárbara' e 'Tendas'), mostram-se adequados ao processamento; 'Aurora' apresenta maior massa, importante atributo para o mercado de frutas frescas;

II) Os acessos mantidos nessa coleção são possuidores de considerável diversidade genética, o que reforça o entendimento de que a amostra de germoplasma analisada represente bem a variabilidade da espécie, pelo menos entre os acessos mais distintos geneticamente. Além disso, os resultados obtidos são indicativos da elevada variabilidade genética, relativamente à umbu-cajazeira, presente na região de coleta dos acessos. Nesses locais foram observadas e registradas variações bem marcantes para caracteres morfológicos. Contudo, torna-se necessário ampliar a área de coleta e aumentar o número de genótipos prospectados;

III) A técnica de marcadores ISSR foi eficiente em analisar a diversidade genética entre os acessos de umbu-cajazeira, confirmando a existência da ampla variabilidade genética, sendo assim importantes em estudos futuros acerca da análise da diversidade genética das populações naturais de umbu-cajazeira;

IV) As análises conjuntas dos caracteres morfoagronômicos e moleculares contribuem para um melhor esclarecimento na definição de estratégias a serem utilizadas no programa de melhoramento de umbu-cajazeira e;

V) Futuros estudos com umbu-cajazeira devem centrar-se nos seguintes objetivos: (1) desenvolvimento de uma biblioteca de DNA, visando à construção de microssatélites (SSR) para investigar as relações parentais e a origem genética desta planta, (2) continuidade dos estudos da biologia reprodutiva, ecologia de polinizadores, dinâmica de populações e (3) ampliação da lista de descritores morfológicos, com vistas à recomendação de cultivares.