

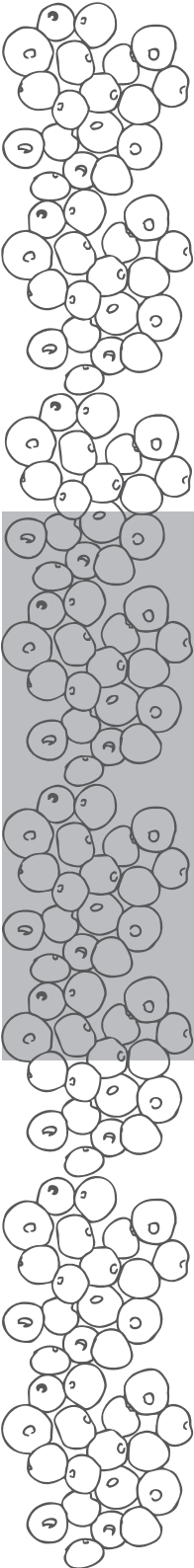
O MURUCIZEIRO

[*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.]:

avanços no conhecimento e ações
de pré-melhoramento

Fábio de Lima Gurgel
Editor técnico





**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Oriental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

O MURUCIZEIRO

[*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.]:

avanços no conhecimento e ações
de pré-melhoramento

Fábio de Lima Gurgel
Editor técnico

Embrapa
Brasília, DF
2016

Embrapa Amazônia Oriental

Tv. Dr. Enéas Pinheiro, s/n.
CEP 66095-903 – Belém, PA.
Fone: (91) 3204-1000
Fax: (91) 3276-9845
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Unidade responsável pelo conteúdo e pela edição

Embrapa Amazônia Oriental

Comitê Local de Publicação

Presidente: *Silvio Brienza Júnior*

Secretário-Executivo: *Moacyr Bernardino Dias-Filho*

Membros: *Orlando dos Santos Watrin*

Eniel David Cruz

Sheila de Souza Correa de Melo

Regina Alves Rodrigues

Luciane Chedid Melo Borges

Supervisão editorial e revisão de texto
Narjara de Fátima Galiza da Silva Pastana

Normalização bibliográfica
Andrea Liliane Pereira da Silva

Projeto gráfico, capa, tratamento de imagens e editoração eletrônica
Vitor Trindade Lôbo

1ª edição

Publicação digitalizada (2016)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Amazônia Oriental

O murucizeiro [*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.] : avanços no conhecimento e ações de pré-melhoramento / Fábio de Lima Gurgel, editor técnico. – Brasília, DF : Embrapa, 2016.
PDF (50 p.) : il. color

Disponível em: <www.embrapa.br/amazonia-oriental/publicacoes>

ISBN 978-85-7035-633-8

1. Muruci. 2. Fruta tropical. 3. Melhoramento genético. I. Gurgel, Fábio de Lima. II. Embrapa Amazônia Oriental.

CDD (21. ed.) 634.6

© Embrapa 2016

Autores

Elisa Ferreira Moura Cunha

Bióloga, doutora em Genética e Melhoramento, pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.

Fábio de Lima Gurgel

Engenheiro-agrônomo, doutor em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.

José Edmar Urano de Carvalho

Engenheiro-agrônomo, mestre em Produção Vegetal, pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.

Maria do Socorro Padilha de Oliveira

Engenheira-agrônoma, doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.

Simone de Miranda Rodrigues

Bióloga, doutora em Genética e Melhoramento, pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.

Walnice Maria Oliveira do Nascimento

Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.

Apresentação

A Embrapa Amazônia Oriental, nas últimas décadas, vem desenvolvendo estudos com diversas espécies frutíferas nativas da Amazônia, com o objetivo de identificar os genótipos de maior adaptação e estabilidade de produção às localidades em que são cultivados.

Os materiais selecionados devem apresentar características exigidas pela agroindústria, contribuindo para o crescente mercado de polpas e sucos do Estado do Pará. Além disso, espera-se que essas fruteiras sejam uma alternativa para a agricultura familiar no estado, tanto como fonte de renda como visando à soberania e segurança alimentar das comunidades locais.

Dentre essas espécies, destaca-se o murucizeiro [*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.], para o qual a Embrapa vem obtendo resultados nas áreas de fisiologia de sementes, produção de mudas, caracterização de recursos genéticos, avaliação morfoagronômica de clones, estudos de adaptação e diversidade genética, utilizando marcadores moleculares.

Este trabalho apresenta os principais avanços nessas áreas e as perspectivas do programa de melhoramento genético do murucizeiro na Embrapa Amazônia Oriental.

Adriano Venturieri

Chefe-Geral da Embrapa Amazônia Oriental

Sumário

Capítulo 1 – Propagação do murucizeiro, **9**

Walnice Maria Oliveira do Nascimento

José Edmar Urano de Carvalho

Capítulo 2 – Recursos genéticos e pré-melhoramento do murucizeiro, **27**

Fábio de Lima Gurgel

José Edmar Urano de Carvalho

Capítulo 3 – Aplicações de marcadores moleculares em *Byrsonima crassifolia*, **41**

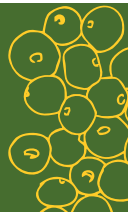
Simone de Miranda Rodrigues

Elisa Ferreira Moura Cunha

Maria do Socorro Padilha de Oliveira

Propagação do murucizeiro

Walnice Maria Oliveira do Nascimento
José Edmar Urano de Carvalho



Introdução

O murucizeiro [*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.] é planta arbustiva da família Malpighiaceae, nativa da Amazônia. Apresenta distribuição geográfica bastante ampla no território brasileiro, sendo, porém, encontrado com maior frequência e abundância nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste, especialmente na primeira, onde se encontram densas e diversificadas populações naturais em áreas campestres e de vegetação secundária. É também encontrado na região Sudeste, em particular nos estados de Minas Gerais e São Paulo, porém de forma mais rara. Rompendo as fronteiras brasileiras, está disperso em todos os países que se limitam com a Amazônia Brasileira e no México, na América Central e no Caribe (CAVALCANTE, 2010; MORTON, 1987; ROOSMALEN, 1985; SOUZA et al., 2006).

O muruci é fruto carnoso, do tipo drupoide, com formato globoso ou oblongo, oriundo de ovário tricarpelado, e cada carpelo contém um óvulo (BARROSO et al., 1999). O tamanho e o peso do fruto apresentam pronunciadas variações, sendo encontrados frutos com diâmetro entre 0,7 cm e 2,2 cm e peso entre 1,0 g e 6,0 g. Essas características têm forte componente genético e independem do número de frutos que se desenvolvem em determinado racemo (Figura 1).



Figura 1. Cacho com frutos de muruci.

Foto: Walnice Nascimento

Na Amazônia Brasileira, assim como nas demais áreas de ocorrência no Brasil, o fruto é pouco consumido ao natural, sendo mais utilizado na elaboração de refresco, sorvete, geleia, doce, licor, bolos, mousses e pudins. No México, é mais frequentemente utilizado em pratos salgados, em particular sopas ou em recheios de carnes (CAVALCANTE, 2010). Utilização semelhante se verifica na América Central, no Caribe.

A porção comestível do muruci, que corresponde ao mesocarpo (polpa), representa 76,6% do peso do fruto. A casca (epicarpo) é o componente que se apresenta em menor proporção, respondendo por 6,7% do peso do fruto. O restante (16,7%) é constituído pelo conjunto endocarpo e sementes, popularmente denominado de caroço (CARVALHO; MÜLLER, 2005).

Biologia Floral

As flores do murucizeiro são hermafroditas e estão dispostas em racemos terminais alongados, que podem atingir até 15 cm de comprimento. É pentâmera, com cálice formado por cinco sépalas oval-triangulares, cada uma contendo dois elaióforos, ou seja, glândulas que secretam óleo, o qual se constitui no principal recurso forrageiro oferecido aos polinizadores. A corola é constituída por cinco pétalas livres, com a pétala superior modificada em pétala estandarte (Figura 2). O androceu apresenta dez estames com filetes concrecidos na base e anteras ovaladas. O gineceu é constituído por ovário súpero, tricarpelar e trilocado, cada lóculo contendo um óvulo. Apresenta três estiletos longos que ultrapassam o nível das anteras (CAVALCANTE, 2010; PEREIRA; FREITAS, 2002; RÉGO; ALBUQUERQUE, 2006a).



Figura 2. Flores do murucizeiro.

Foto: Urano de Carvalho

O murucizeiro é considerado como espécie alogama e autocompatível (SIHAG, 1995), embora Pereira e Freitas (2002) tenham observado baixo vingamento de frutos, em flores submetidas à autopolinização. Os principais agentes polinizadores são abelhas dos gêneros *Centris*, *Epicharis* e *Paratetrapedia* (RÊGO; ALBUQUERQUE, 2006b).

Provavelmente, a alogamia no murucizeiro seja determinada por mecanismo de dicogamia, que consiste na maturação dos estames e do gineceu em épocas distintas, de modo que a flor, conquanto morfológicamente hermafrodita, é fisiologicamente unissexual. Especula-se sobre a ocorrência de dicogamia na flor do murucizeiro pelo fato de que em centenas de autopolinizações efetuadas no momento da antese, em diferentes genótipos da Coleção de Germoplasma de Murucizeiro da Embrapa Amazônia Oriental, não ocorreu o desenvolvimento de frutos. Para Pereira e Freitas (2002), o murucizeiro é planta predominantemente de polinização cruzada, que possui florescimento prolongado e apresentação diária de flores como estratégia reprodutiva para assegurar a polinização em seu habitat natural.

Em ambientes em que os polinizadores ocorrem abundantemente, a conversão de flores em frutos é elevada, desde que não haja predação de flores e de frutos em formação e que os fatores abióticos sejam favoráveis para a polinização e para o crescimento e desenvolvimento dos frutos. Nessas condições, García-Núñez e Azócar (2004) observaram taxa de conversão de flores em frutos de 65%. No entanto, resultados obtidos na Embrapa Amazônia Oriental em quatro clones de murucizeiro cultivados na microrregião Belém, PA, com abundante presença de abelhas do táxon *Epicharis*, indicaram taxas bem menores, entre 10,6% e 23,3%, não obstante ter sido constatada porcentagem de fecundação de óvulos superior a 70%, entre 20 e 30 dias após a abertura das flores.

Época de frutificação

Na microrregião Belém, a época de produção de frutos ocorre, geralmente, no período de outubro a janeiro. Pequenas produções também são verificadas em fevereiro, março, abril e maio. Esse padrão de distribuição da produção de frutos também é observado em outros locais da Amazônia Oriental Brasileira, em que a espécie ocorre espontaneamente, com pequenas variações nos meses de início, pico e término de produção (Figura 3).

O murucizeiro [*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.]: avanços no conhecimento e ações de pré-melhoramento

A desuniformidade na maturação dos frutos é bastante pronunciada entre racemos de uma mesma planta e, em intensidade menor, entre frutos de um mesmo racemo. Dentro de um racemo, o intervalo entre a abscisão do primeiro e do último fruto situa-se entre 6 e 20 dias, com média de 11 dias (CARVALHO et al., 2006).

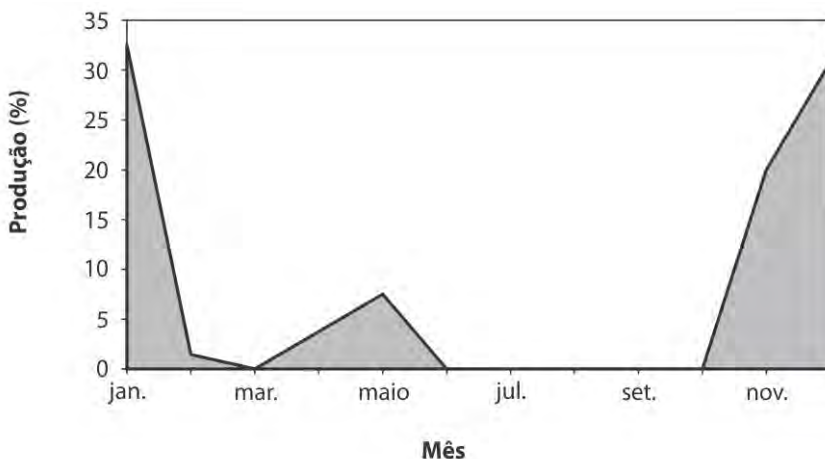


Figura 3. Distribuição percentual da produção de frutos de muruci durante o ano.

Fonte: Carvalho et al. (2006).

Métodos de propagação

O murucizeiro em estado natural se reproduz somente por via sexuada. Na produção comercial de mudas, é propagado tanto por via sexuada (sementes) como por via assexuada, particularmente por enxertia. Nesse último caso, os métodos de garfagem no topo em fenda cheia e gema com escudo apresentam boa porcentagem de enxertos pegos (CARVALHO et al., 2006).

Propagação sexuada

A unidade de dispersão (diásporo) e de propagação do murucizeiro é o pirênio, popularmente denominado de caroço, que é constituído pelo conjunto endocarpo e sementes. Os pirênios apresentam formato arredondado ou ovalado, são rígidos e com superfície externa reticulada e contêm de uma a três sementes. Obviamente, o número de sementes

contidas em um pirênio depende do número de óvulos que foram fecundados e que apresentaram desenvolvimento normal (Figura 4). Com maior frequência, são encontradas três sementes, localizadas em lóculos individualizados, as quais são diminutas em relação ao tamanho do caroço (CARVALHO et al., 2006; CAVALCANTE, 2010).



Foto: Urano de Carvalho

Figura 4. Pirênios de muruci contendo uma, duas e três sementes.

O peso dos pirênios varia acentuadamente entre genótipos e, em menor intensidade, dentro dos genótipos. Assim sendo, o número de pirênios por quilograma se situa entre 1.429 e 4.090 (Tabela 1). Normalmente pirênios maiores estão associados a frutos de maior tamanho.

Tabela 1. Peso de 100 pirênios de muruci e número de pirênios por quilograma, em função da planta-matriz.

Planta-matriz	Peso de 100 pirênios ⁽¹⁾ (g)	Número de pirênios por quilograma
Açu	70,0	1.429
Cristo	47,0	2.128
Maracanã 1	24,5	4.090
Maracanã 2	25,0	4.000
Tocantins 1	28,2	3.546
Tocantins 2	35,1	2.849
Terra Alta	31,7	3.155
Média	37,4	3.028

⁽¹⁾ Pirênios com teor de umidade de 7,5%.

Fonte: Carvalho et al. (2006).

As sementes são pequenas em relação ao pirênio, representando entre 10% e 19% do peso deste. As sementes desprovidas do endocarpo não são utilizadas como unidade de propagação, em decorrência da dificuldade de removê-las do interior dessa estrutura sem que ocorra comprometimento da capacidade de germinação (Figura 5). Estão envolvidas por tegumento delgado de cor creme e a radícula apresenta-se bastante exposta, sendo facilmente danificada quando se efetua a remoção do endocarpo. O embrião é espiralado e representa a quase totalidade do volume da semente (BARROSO et al., 1999).



Figura 5. Detalhe da semente de muruci dentro do pirênio.

Foto: Malnice Nascimento

Extração e beneficiamento das unidades de propagação

A maturação dos frutos é um aspecto importante para que as sementes germinem. Assim sendo, as sementes destinadas à produção de mudas ou porta-enxertos devem ser oriundas de frutos em completo estágio de maturação, caracterizados pela cor amarela do epicarpo e pela consistência mole da polpa. A utilização de frutos completamente maduros facilita sobremaneira a operação de remoção da polpa e a limpeza dos pirênios.

Normalmente, os frutos não são colhidos e sim coletados no solo, após se desprenderem naturalmente da planta-mãe. No momento em que ocorre a abscisão, os frutos, conquanto fisiologicamente maduros e com as sementes expressando sua máxima qualidade fisiológica, apresentam, ainda, polpa (mesocarpo) com consistência firme, sendo necessárias 24 a 48 horas para que adquiram consistência mole e possam, conseqüentemente, ser despulpados. Os frutos que já estejam em início de deterioração se prestam como fonte de material propagativo, haja vista as sementes não serem afetadas, pois estão protegidas pelo endocarpo.

A remoção da polpa pode ser efetuada manualmente ou mecanicamente. No primeiro caso, utiliza-se uma peneira com tela de arame, esfregando

os frutos sobre a tela com as mãos, até que ocorra o desprendimento da polpa. No despulpamento mecânico, a remoção é realizada em máquinas despulpadoras, correntemente utilizada para extração de polpa de frutas tropicais. Para pequenas quantidades de frutos, a remoção da polpa pode ser efetuada utilizando-se um liquidificador doméstico, o qual deve ser acionado na posição pulsar. Para que funcione eficientemente, é necessário que o volume de água seja, no mínimo, duas vezes o volume de frutos.

Após a remoção da polpa, os pirênios devem ser lavados em água corrente até que a superfície do endocarpo se apresente completamente desprovida de resíduos de polpa. A remoção completa desses resíduos é particularmente importante quando é necessário o armazenamento.

Armazenamento

As sementes de muruci apresentam comportamento ortodoxo, podendo, portanto, ser conservadas pelos métodos convencionais de armazenamento, que têm como pressupostos básicos a redução do teor de água para níveis entre 4% e 7% e o armazenamento em temperaturas igual ou inferiores a 18 °C (CARVALHO et al., 2001). Estudos desenvolvidos por Carvalho e Müller (2005) demonstraram a possibilidade de manutenção da viabilidade das sementes por 10 anos. Para tanto, é necessário que os pirênios sejam submetidos à secagem até que o teor de água seja reduzido para nível próximo a 5% e que sejam armazenados em temperatura igual ou inferior a 18 °C negativos, em embalagem à prova de vapor d'água. A secagem é necessária, pois os pirênios, logo após a remoção da polpa, estão com teor de água em torno de 17% (CARVALHO et al., 1998).

Um procedimento simples para preservar a viabilidade das sementes por períodos de até 1 ano consiste em secar os pirênios, de tal forma que o teor de água seja reduzido para nível máximo entre 6% e 7%. Em seguida, devem ser acondicionados em embalagens à prova de vapor d'água e armazenados em refrigerador doméstico (temperatura entre 5 °C e 8 °C). A secagem pode ser efetuada ao sol ou em ambiente com umidade relativa do ar inferior a 40%, utilizando dessecadores com sílica-gel ou outras substâncias dessecantes.

O armazenamento nas condições de ambiente natural da Amazônia não é recomendado, pois as sementes perdem completamente a viabilidade entre 4 e 6 meses após o início do armazenamento, independentemente do tipo de embalagem.

Semeadura

A semeadura pode ser efetuada em sementeiras ou diretamente em sacos de plástico. Um bom substrato para a germinação de sementes de muruci é a mistura de areia com pó de serragem curtida, na proporção volumétrica de 1:1. A mistura de areia com fibra de coco triturada ou com vermiculita também se constitui em substrato adequado, porém o custo desses produtos é maior.

Germinação

A porcentagem de germinação de sementes de muruci é normalmente baixa, lenta e com acentuada desuniformidade (CARVALHO et al., 1998). Entretanto, dentro de um mesmo lote de sementes, existe pequena proporção (20% a 30%) que germina prontamente, pois não apresenta dormência fisiológica e o endocarpo não oferece restrições à germinação (CARVALHO et al., 1998; CARVALHO; NASCIMENTO, 2008).

Em pesquisas desenvolvidas com sementes do clone Açú, ficou comprovado que a germinação das sementes de muruci é regulada por dois mecanismos de dormência: o primeiro representado pelo espesso e córneo endocarpo, o qual é permeável à água, mas oferece resistência mecânica ao crescimento do embrião, e o segundo em razão da dormência fisiológica. Os autores obtiveram elevadas porcentagens de germinação e redução substancial no tempo para emergência das plântulas, quando os pirênios foram pré-embebidos em água ou em solução de ácido giberélico e, em seguida, submetidos à fratura do endocarpo por compressão. O mesmo resultado foi observado para os pirênios dos clones Cristo, Santarém-2 e Tocantins-1 (Figura 6).

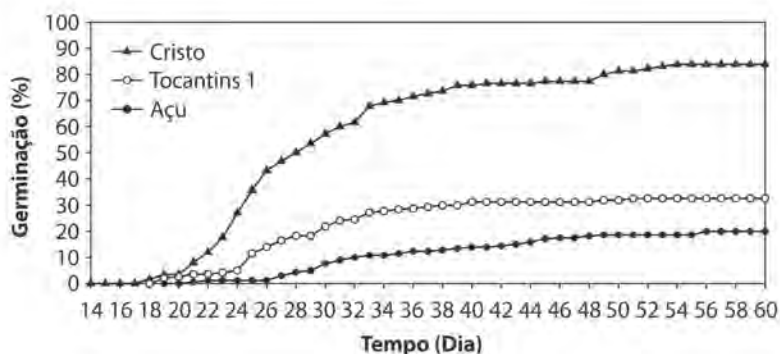


Figura 6. Germinação de sementes de muruci dos clones Cristo, Açú e Tocantins 1.

Fonte: Adaptado de Carvalho e Nascimento (2008).

Em experimento com três clones de murucizeiro, foi verificado que a secagem dos pirênios propiciou aumento na velocidade de emergência e redução no tempo médio de germinação. O período de secagem dos pirênios de muruci por 240 horas proporcionou porcentagem de germinação de 90%, 65% e 53%, respectivamente, para os clones Açú, Maracanã-2 e Guataçara 1.1 (Figura 7).

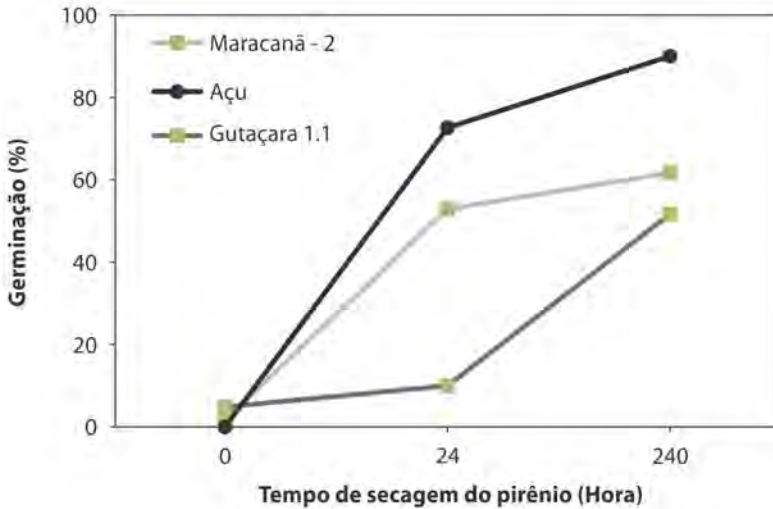


Figura 7. Germinação de sementes de muruci dos clones Açú, Maracanã-2 e Guataçara 1.1, após secagem dos pirênios.

Fonte: Nascimento et al. (2011).

A baixa porcentagem de germinação é primariamente determinada pelas restrições impostas pelo endocarpo que, em razão de sua consistência pétrea, oferece resistência mecânica ao crescimento do embrião. Convém ressaltar que o endocarpo é permeável à água, permitindo que as sementes absorvam essa substância quando semeadas em substrato com disponibilidade hídrica adequada para a germinação.

A desuniformidade na germinação, mesmo em sementes oriundas de determinada planta-mãe, é decorrente do fato de que o grau de resistência imposto pelo endocarpo varia entre pirênios. Dentro de um mesmo pirênio, a intensidade de resistência é semelhante, haja vista que, quando essa estrutura apresenta duas ou três sementes viáveis em seu interior, em geral, a germinação ocorre simultaneamente (Figura 8).



Figura 8. Detalhe da germinação simultânea de duas sementes de muruci contidas em um mesmo pirênio.

Foto: Uirano de Carvalho

A emergência da raiz primária, que é a primeira parte da plântula que se exterioriza, só ocorre após o desprendimento de estrutura do endocarpo semelhante a um pequeno opérculo. Cada endocarpo apresenta três dessas estruturas, independentemente de apresentar uma, duas ou três sementes.

A emergência dos cotilédones ocorre entre 2 e 3 dias após o surgimento da raiz primária e, logo em seguida, observa-se o desenvolvimento do epicótilo.

A germinação da semente de muruci é epigeal, ou seja, os cotilédones ultrapassam a superfície do substrato de semeadura e a plântula é do tipo fanerocotiledonar, conforme classificação de Duke e Polhill (1981).

Superação da dormência

A superação da dormência de sementes de muruci pode ser obtida provocando-se fraturas no endocarpo ou imergindo-se os pirênios, durante 24 horas, em solução de ácido giberélico ou, ainda, combinando os dois métodos, ou seja, imergindo-se os pirênios em solução de ácido giberélico e provocando-se, posteriormente, fraturas no endocarpo. O uso da solução de ácido giberélico na concentração de 500 mg L^{-1} , propiciou 85,5% de germinação no clone Cristo. Entretanto, o uso de ácido giberélico acarreta aumento de custos ao produtor. Conquanto o ácido giberélico estimule a germinação de sementes contidas em pirênios em que não se provoca fraturas no endocarpo, os resultados são menos expressivos do que quando se provoca simplesmente fraturas no endocarpo. Assim sendo, o método recomendado para acelerar a germinação das sementes consiste na imersão dos pirênios em água seguido de fraturas no endocarpo por compressão. Esse procedimento proporcionou 80,5% de germinação em sementes do clone Cristo, 40 dias após a semeadura (CARVALHO; NASCIMENTO, 2013).

A fratura no endocarpo pode ser efetuada comprimindo-se levemente o caroço (pirênio), no sentido do ápice para a base em uma morsa ou prensa manual (Figura 9). Para que o método seja eficiente e eficaz, é importante que os pirênios sejam previamente imersos em água ou em solução de ácido giberélico, durante 24 horas. Tal procedimento é necessário, pois a imersão em água, além de tornar o duro e espesso endocarpo um pouco menos resistente, confere certa elasticidade aos tecidos da semente, evitando fraturas no embrião. Quando os pirênios não são imersos em água, a quase totalidade das sementes sofre danificações na radícula, o que compromete a viabilidade das sementes ou condiciona elevada proporção de plântulas anormais.



Foto: Uirano de Carvalho

Figura 9. Compressão para provocar fratura no endocarpo em pirênio do muruci.

Repicagem

No caso da semeadura em sementeiras, a repicagem para sacos de plástico deve ser efetuada logo após a emergência das plântulas, ou seja, quando estão apenas com as folhas cotiledonares. Como cada pirênio de muruci pode conter até três sementes, no caso em que ocorre a germinação de duas ou três sementes, retirando as plântulas com cuidado, é possível o aproveitamento de todas para formação de mudas.

Recipientes e substratos para formação de mudas

Quando a muda não for enxertada, são indicados sacos de polietileno preto com dimensão de 17 cm de largura e 27 cm de altura e espessura de 100 micra, por a muda ficar menos tempo no viveiro (4 a 5 meses). Para formação de porta-enxertos, as mudas, após a enxertia, permanecem mais 3 a 4 meses no viveiro. São indicados sacos de polietileno com maior

O murucizeiro [*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.]: avanços no conhecimento e ações de pré-melhoramento

espessura, com dimensão de 18 cm x 35 cm e espessura de 200 micra. Pode ser também utilizado tubete com capacidade para 288 cm³ (Figura 10).

Como substrato, é indicada a seguinte mistura: 80% de solo + 20% de cama de aviário. No caso da utilização de esterco puro (de gado ou ave), a mistura deve ser de 60% de solo, 20% de pó de serragem ou fibra de coco triturada e 20% de esterco curtido (TAVARES et al., 2014).



Foto: Wainice Nascimento

Figura 10. Formação de mudas de murucizeiro em tubetes.

As mudas recém-repicadas devem ser mantidas em viveiro com nível de incidência de luz em torno de 50%. As plantas estarão aptas para o plantio no local definitivo entre 4 e 6 meses após a repicagem, ocasião em que apresentarão altura entre 40 cm e 50 cm, diâmetro basal em torno de 0,5 cm e número de folhas entre 14 e 20 (Figura 11).



Foto: Wainice Nascimento

Figura 11. Muda de murucizeiro obtida por semente.

Propagação assexuada

A propagação assexuada do murucizeiro visa fundamentalmente assegurar a reprodução integral de genótipos que apresentam características desejáveis, tais como: elevada produtividade, frutos de maior tamanho e maior rendimento percentual de polpa, maturação uniforme dos frutos dentro dos racemos, polpa com teor de sólidos solúveis totais superior a 12 °Brix, entre outras.

Ao contrário da maioria das espécies frutíferas amazônicas, a propagação do murucizeiro por via assexuada não tem por objetivo a redução da fase jovem da planta, haja vista o murucizeiro ser uma espécie que apresenta característica de precocidade bastante pronunciada. Plantas oriundas de sementes, desde que manejadas adequadamente, começam a produzir os primeiros frutos 10 a 12 meses após o plantio no local definitivo. Em alguns casos, têm sido observadas produções de até 6 kg na primeira safra.

Propagação por estaquia de ramos

Para a propagação por estaquia, é imprescindível a utilização de propagador com sistema de nebulização intermitente, programado para nebulizar água durante 30 segundos, a cada 10 minutos. Esse procedimento é necessário para evitar que as estacas percam água, o que compromete o enraizamento.

Utilizando-se estacas terminais tratadas durante 24 horas com solução de ácido-3-indol-butírico, na concentração de 250 mg L^{-1} , foram obtidas porcentagens de enraizamento, 90 dias após a colocação das estacas no substrato de enraizamento, de até 80% nos genótipos de fácil enraizamento e entre 10% e 30% nos de difícil enraizamento. As estacas apresentaram número superior a 20 raízes e sobrevivência superior a 80% no viveiro. Os resultados até então obtidos indicaram que a capacidade de enraizamento das estacas varia de acordo com o genótipo. Assim sendo, existem genótipos cujas estacas enraízam mais facilmente e outros que são de difícil enraizamento (CARVALHO et al., 2006).

As estacas, logo após o enraizamento, devem ser transplantadas para sacos de plástico com dimensões mínimas de 18 cm de largura e 30 cm de comprimento. As mudas recém-transplantadas para os sacos de plástico devem ser mantidas por 7 a 10 dias, sob nebulização intermitente, sendo, posteriormente, levadas para viveiro coberto com telas de plástico que permitam a interceptação de 50% da radiação solar.

As mudas oriundas de estacas estão aptas para serem plantadas no local definitivo entre 3 e 4 meses após o enraizamento (Figura 12).

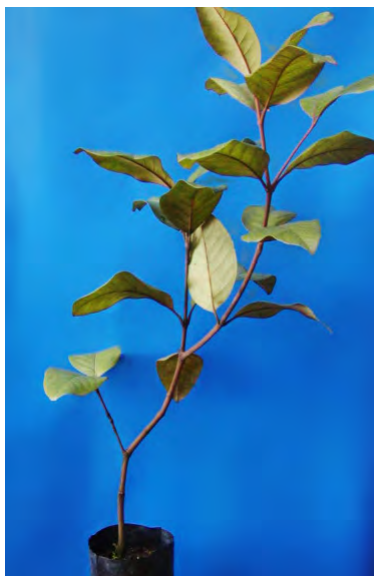


Foto: Wainice Nascimento

Figura 12. Muda de murucizeiro, propagada por estaquia pronta para ser levada ao local definitivo.

Plantas propagadas por estacas apresentam bom crescimento tanto na fase de viveiro como após o plantio no local definitivo e são bastante precoces. Algumas plantas, obtidas a partir de estacas, plantadas em fevereiro de 2006, na sede da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, PA, iniciaram a floração 4 meses após o plantio. Essa precocidade muitas vezes se manifesta quando as plantas ainda estão no viveiro. Entretanto, por casua das baixas porcentagens de enraizamento das estacas e apesar de alguns resultados promissores para alguns clones com esse método de propagação, ainda não foi possível estabelecer metodologia para a produção de mudas de murucizeiro em larga escala por meio de estacas de ramos (NASCIMENTO; RODRIGUES-JUNIOR, 2014).

Propagação por enxertia

O porta-enxerto recomendado é o próprio murucizeiro obtido a partir de sementes. A enxertia pode ser efetuada tanto por garfagem no topo em fenda cheia, como por borbulhia em placa. No primeiro caso, pode ser efetuada em porta-enxertos oriundos de sementes, com idade entre 4 e 6 meses após a repicagem e, no segundo, em porta-enxertos com idade entre 8 e 10 meses, haja vista que estes devem apresentar diâmetro em torno de 0,8 cm no local em que será inserido o escudo, enquanto, no primeiro caso, a enxertia pode ser realizada quando o porta-enxerto apresenta diâmetro em torno de 0,5 cm (Figura 13).



Fotos: Valnice Nascimento

Figura 13. A) Planta de murucizeiro enxertada por borbulhia, em início de brotação do enxerto. B) Planta enxertada por garfagem no topo em fenda cheia

Em ambos os métodos, tem-se obtido porcentagens de enxertos pegos entre 40% e 80%. Essa ampla variação é decorrente da fenofase em que se encontra a planta-matriz fornecedora das ponteiros ou gemas. Para o caso da enxertia por garfagem no topo em fenda cheia, melhores resultados têm sido obtidos quando as ponteiros são retiradas imediatamente após a frutificação.

Mudas enxertadas devem ser produzidas em sacos de plástico com dimensões mínimas de 18 cm de largura, 35 cm de altura e 200 micras de espessura e estão aptas para o plantio entre 2 e 3 meses após a brotação do enxerto.



O murucizeiro [*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.]: avanços no conhecimento e ações de pré-melhoramento

Referências

BARROSO, G. M.; MORIM, M. P.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa: Ed. da UFV, 1999. 443 p.

CARVALHO, J. E. U. de; MÜLLER, C. H. **Biometria e rendimento percentual de polpa de frutas nativas da Amazônia**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2005. 4 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Comunicado técnico, 139).

CARVALHO, J. E. U. de; MÜLLER, C. H.; NASCIMENTO, W. M. O. do. **Classificação de sementes de espécies frutíferas nativas da Amazônia de acordo com o comportamento no armazenamento**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2001. 4 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Comunicado técnico, 60).

CARVALHO, J. E. U. de; NASCIMENTO, W. M. O. do. Caracterização biométrica e respostas fisiológicas de diásporos de murucizeiro a tratamentos para superação da dormência. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 3, p. 704-712, 2013.

CARVALHO, J. E. U. de; NASCIMENTO, W. M. O. do. Caracterização dos pirênios e métodos para acelerar a germinação de sementes de muruci do clone Açú. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 3, p. 775-781, 2008.

CARVALHO, J. E. U. de; NASCIMENTO, W. M. O. do; MÜLLER, C. H. **Características físicas e de germinação de sementes de espécies frutíferas nativas da Amazônia**. Belém, PA: Embrapa-CPATU, 1998. 18 p. (Embrapa-CPATU. Boletim de pesquisa, 203).

CARVALHO, J. E. U. de; NASCIMENTO, W. M. O. do; MÜLLER, C. H. **Propagação do murucizeiro (*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.)**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2006. 27 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 261).

CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis na Amazônia**. 7. ed. Belém, PA: CNPq: Museu Paraense Emílio Goeldi, 2010. 282 p.

DUCKE, J. A.; POHILL, R. M. Seedlings of leguminosae. In: POHILL, R. M.; RAVEN, P. H. (Ed.). **Advances in legumes systematics**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1981. pt. 2, p. 941-949.

GARCÍA-NÚÑEZ, C.; AZÓCAR, A. Regeneration ecology of savanna trees. **Ecotropicos**, v.17, n. 1/2, p. 1-24, 2004.

MORTON, J. F. **Fruits of warm climate**. Miami: University of Miami, 1987. 507 p.

NASCIMENTO, W. M. O. do; RIBEIRO, O. D.; BARROS, H. S. D.; RODRIGUES JUNIOR, O. M. Uniformização da germinação em sementes de clones de muruci. **Informativo Abrates**, v. 21, n. 2, p. 170-170, 2011. Resumos do CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 17., 2011, Natal.

NASCIMENTO, W. M. O. do; RODRIGUES-JUNIOR, O. M. Regeneração de estacas em diferentes clones de murucizeiro com ácido indol butírico. In: ENCONTRO AMAZÔNICO DE AGRÁRIAS, 6., 2014, Belém, PA. **Atuação das ciências agrárias nos sistemas de produção e alterações ambientais**: anais. Belém, PA: Ed. da Ufra, 2014.

PEREIRA, J. O. P. P.; FREITAS, B. M. Estudo da biologia floral e requerimentos de polinização do murucizeiro (*Byrsonima crassifolia* L.). **Revista Ciência Agronômica**, v. 33, n. 2, p. 5-12, 2002.

RÊGO, M.; ALBUQUERQUE, P. A biologia da floração do muruci e a diversidade de abelhas. In: RÊGO, M.; ALBUQUERQUE, P. **Polinização do muruci**. São Luís: EDUFMA; [Brasília, DF]: Ministério do Meio Ambiente, 2006a. p. 33-47.

RÊGO, M.; ALBUQUERQUE, P. Histórico do muruci. In: RÊGO, M.; ALBUQUERQUE, P. **Polinização do muruci**. São Luís: EDUFMA; [Brasília, DF]: Ministério do Meio Ambiente, 2006b. p. 21-32.

ROOSMALEN, M. G. M. van. **Fruits of the Guianan Flora**. Utrecht: Instituto of Systematic Botany; Wageningen: Silvicultural Department of Wageningen Agricultural University, 1985. 483 p.

SIHAG, R. C. Pollination, pollinators & pollination modes: ecological & economic importance. In: ROUBIK, D. W. **Pollination of cultivated plants in the tropics**. Rome: FAO, 1995. p.11-39. (FAO agricultural service bulletin, 118).

SOUZA, F. M.; SOARES JÚNIOR, F. J.; TEIXEIRA, A. de P. **Diversidade e similaridade florística em cinco fragmentos de cerrado no município de Itirapina, SP**. Disponível em: <www.ib.unicamp.br/profs/fsantos/relatorios/ne211b.pdf>. Acesso em: 11 ago. 2006.

TAVARES, R. F. M.; NASCIMENTO, W. M. O. do; MALCHER, D. J. P.; MENDES, N. V. B. Produção de mudas de murucizeiro (*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.) com diferentes concentrações de nutrientes. In: SEMINÁRIO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 18.; SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 2., 2014, Belém, PA. **Anais...** Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2014. 1 CD-ROM.

Recursos genéticos e pré-melhoramento do murucizeiro

Fábio de Lima Gurgel
José Edmar Urano de Carvalho



O murucizeiro [*Byrsonima crassifolia* (L.) HBK] (Figura 1) é considerado uma espécie semidomesticada (CLEMENT, 1999), ou seja, que ainda não passou totalmente por um conjunto de atividades que visa incorporar uma planta silvestre ao acervo de plantas disponíveis para uso e consumo pelo homem. As atividades incluem uma série de técnicas cognitivas (por exemplo, modo de reprodução da espécie, sistemas de cruzamentos, manejo, etc.) que pode tornar a espécie inteiramente dependente do ser humano para sua propagação, perdendo a capacidade de viver na natureza. Atingindo esse estágio, uma espécie domesticada tem sua evolução determinada pela seleção natural e pela seleção artificial, tornando o homem um agente seletivo de maior força que os tradicionais agentes (por exemplo, mutação, recombinação) da seleção natural (BORÉM; MIRANDA, 2013).

É uma espécie com potencial tanto para consumo in natura quanto para processamento industrial para fabricação de polpa, suco, licor, geleias e sorvetes. As populações locais que vivem do extrativismo têm o muruci como uma importante fonte de renda, sendo comum sua comercialização em feiras livres (LOURENÇO et al., 2013).

Em razão do potencial do murucizeiro, torna-se necessário um estudo mais amplo do seu Banco Ativo de Germoplasma (BAG), localizado na Embrapa Amazônia Oriental (Belém, PA) e onde estão conservados materiais representativos dos locais em que essa espécie é originária. Esse BAG está devidamente legalizado junto ao MMA, com credenciamento 037/2010-SECEX-CGEN, e foi implantado no ano de 2010, com 17 acessos (Figura 2). Os acessos do BAG foram provenientes de coletas de ponteiros (ramos que serviram como enxertos) realizadas em áreas de populações naturais localizadas em municípios do Estado do Pará. As ponteiros foram enxertadas em porta-enxertos de polinização aberta em plantas da mesma

O murucizeiro [*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.]: avanços no conhecimento e ações de pré-melhoramento

espécie. Posteriormente, as mudas enxertadas que apresentaram bom desenvolvimento foram plantadas no BAG (Figura 3).



Fotos: (A-C) Fábio Gurgel; (D) Walnice Nascimento

Figura 1. Murucizeiro [*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.]: A) planta, B) Inflorescência, C) inflorescência em senescência, D) frutos.

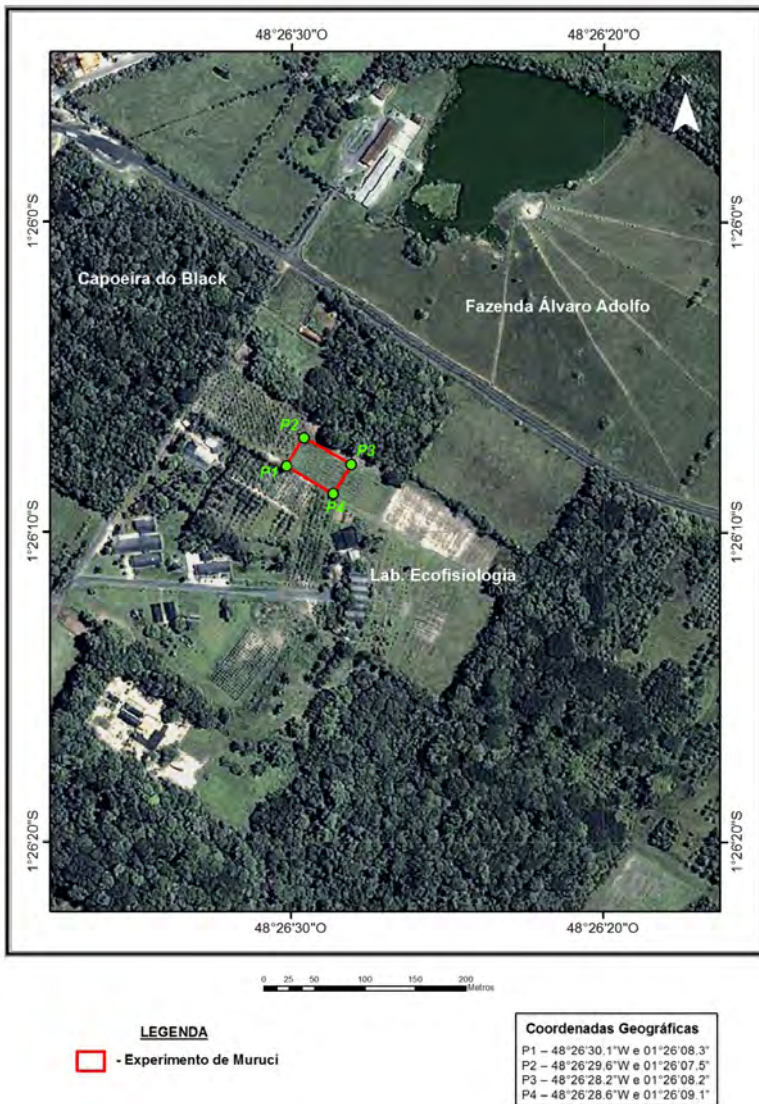


Figura 2. Localização do Banco Ativo de Germoplasma de murucizeiro [*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich.] da Embrapa Amazônia Oriental.

Fonte: Laboratório de Sensoriamento Remoto da Embrapa Amazônia Oriental



Figura 3. Banco Ativo de Germoplasma de murucizeiro [*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich.] da Embrapa Amazônia Oriental.

A Tabela 1 descreve as subamostras que compõe o BAG de murucizeiro da Embrapa Amazônia Oriental. Para fins da Resolução N° 18 do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (Cgen), obteve-se uma Autorização Especial de Acesso ao Patrimônio Genético para fins de Pesquisa Científica da Embrapa (N° 002/2008 – Processo 02000.002408/2013-74).

Tabela 1. Subamostras depositadas no BAG de murucizeiro da Embrapa Amazônia Oriental.

Espécies	Código da subamostra	Local de coleta	Data da coleta	Tipo de material depositado	Quantidade de material depositado
Muruci (<i>Byrsonima crassifolia</i>)	Açu	1°26'8,32"S e 48°26'30,1"W	Ago.1998	Planta viva	5
Muruci (<i>Byrsonima crassifolia</i>)	Cristo	1°26'8,32"S e 48°26'30,1"W	Dez.1984	Planta viva	5
Muruci (<i>Byrsonima crassifolia</i>)	Guataçara 1.1	1°26'8,32"S e 48°26'30,1"W	Jan.1999	Planta viva	5
Muruci (<i>Byrsonima crassifolia</i>)	Igarapé-Açu	1°26'8,32"S e 48°26'30,1"W	Jan.1998	Planta viva	5
Muruci (<i>Byrsonima crassifolia</i>)	Maracanã 2	1°26'8,32"S e 48°26'30,1"W	Jan.1999	Planta viva	5

continua...

Tabela 1. Continuação.

Espécies	Código da subamostra	Local de coleta	Data da coleta	Tipo de material depositado	Quantidade de material depositado
Muruci (<i>Byrsonima crassifolia</i>)	Santarém 1	1°26'8,32"S e 48°26'30,1"W	Dez.1999	Planta viva	5
Muruci (<i>Byrsonima crassifolia</i>)	Santarém 2	1°26'8,32"S e 48°26'30,1"W	Dez.1999	Planta viva	5
Muruci (<i>Byrsonima crassifolia</i>)	São José	1°26'8,32"S e 48°26'30,1"W	Jan.1999	Planta viva	5
Muruci (<i>Byrsonima crassifolia</i>)	Tocantins 1	1°26'8,32"S e 48°26'30,1"W	Ago.1995	Planta viva	5
Muruci (<i>Byrsonima crassifolia</i>)	Tocantins 2	1°26'8,32"S e 48°26'30,1"W	Ago.1990	Planta viva	5

A Figura 4 apresenta o mapa de localização dos pontos de coleta das amostras em função das coordenadas geográficas registradas para cada acesso do BAG de murucizeiro. Observa-se que foram coletadas amostras dos municípios de Belém, Terra Alta, Maracanã, Igarapé-açu, Ipixuna do Pará e Santarém.

O mapeamento dos locais de coleta de acessos de murucizeiro possibilita o estudo da diversidade genética desses materiais, garantindo segurança na manutenção dos acessos e rastreabilidade das matrizes em caso de reposição. Esse estudo permite também a expansão dos locais de coleta para obtenção de novas amostras, que aumentarão a variabilidade genética do BAG.

Uma maneira de se avaliar a diversidade genética de um BAG é por meio dos estudos de interação genótipos x ambiente, permitindo identificar entre as subamostras estudadas quais genótipos são mais adaptados e com estabilidade de produção ao longo dos anos nos locais em que estão sendo cultivados. Dessa forma, a Embrapa Amazônia Oriental vem realizando nos últimos anos ensaios de competição entre genótipos do BAG de murucizeiro em três localidades no Estado do Pará (Figura 5). Para fins da Resolução Nº 18 do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN), obteve-se uma Autorização Especial de Acesso ao Patrimônio Genético para fins de Bioprospecção pela Embrapa (Nº 001-B/2013 – Processo 02000.002408/2013-74).

O murucizeiro [*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.]: avanços no conhecimento e ações de pré-melhoramento

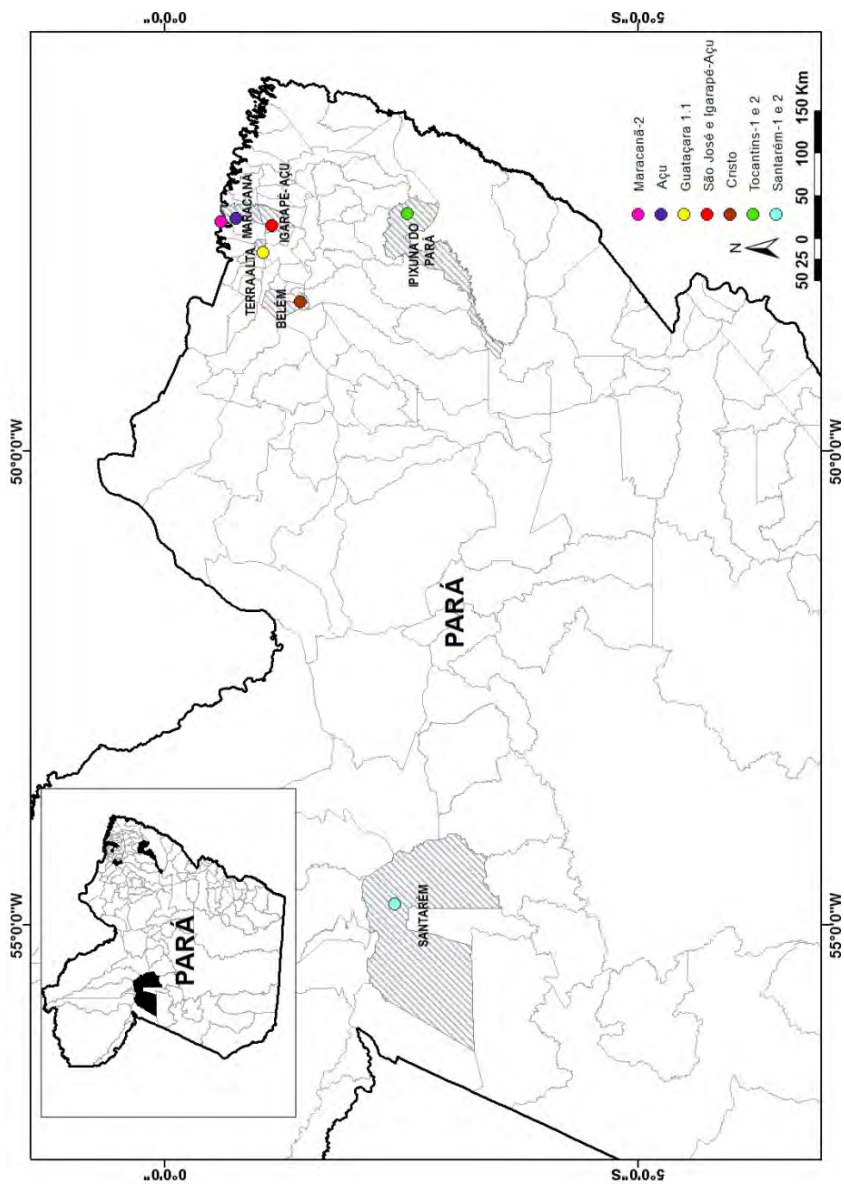


Figura 4. Mapa de localização da coleta das amostras dos acessos que compõe o BAG de murucizeiro.

Autoria: Rosana Sumiya Gurgel.

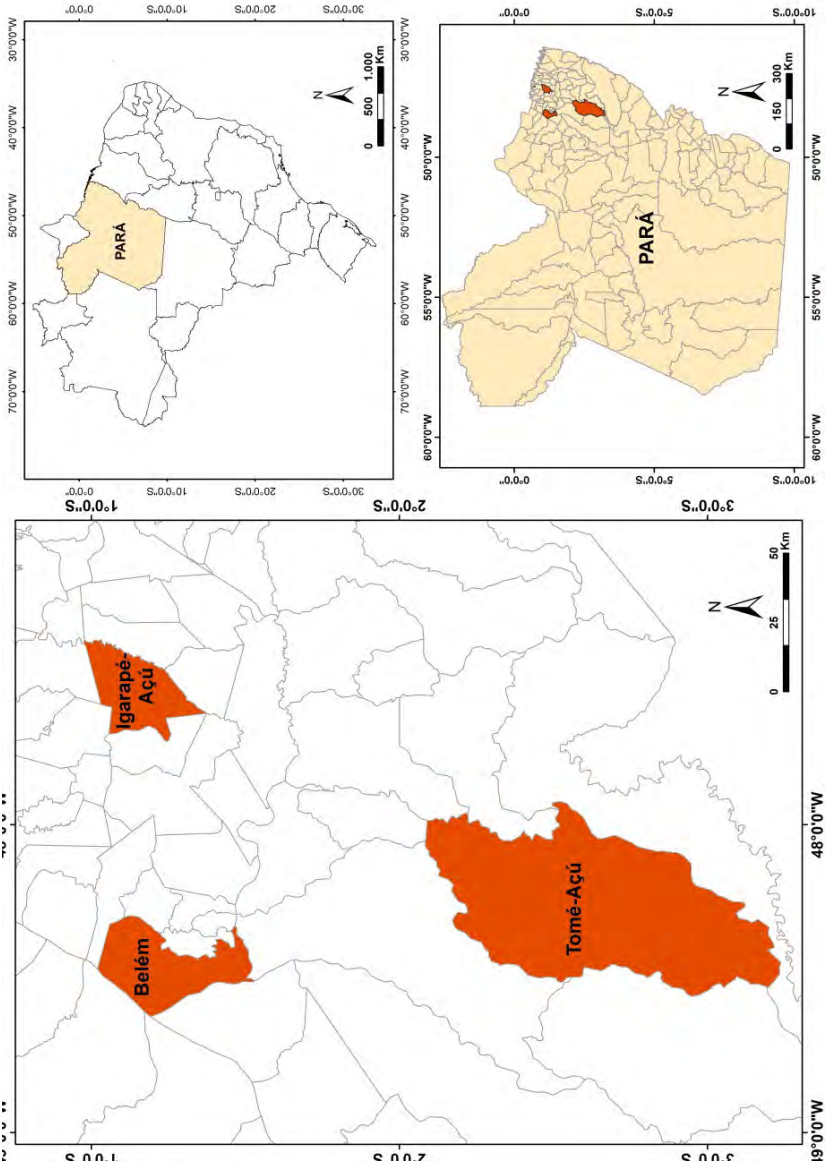


Figura 5. Localidades com experimentos de competição de clones de murucizeiro no Estado do Pará.

Autoria: Rosana Sumiya Gurgel.

Os experimentos com clones de murucizeiro propagados por enxertia foram instalados em três municípios do Estado do Pará: Belém, em área da Embrapa Amazônia Oriental; Tomé-açu, em campo experimental da Embrapa; Igarapé-açu, em área de produtor. Os seguintes clones estão sendo avaliados: Açú, Cristo, Guataçara, Igarapé-açu, Santarém 1, Santarém 2, Tocantins 1, Tocantins 2, São José, Maracanã 1 (testemunha) e Maracanã 2 (testemunha).

Cada experimento foi delineado em blocos casualizados com seis repetições, sendo 11 tratamentos com uma planta por parcela, com total de 66 plantas/experimento. O ideótipo do murucizeiro seria aquele clone que apresentasse produtividades, no primeiro e segundo ano após o plantio, superiores a 6 kg e 12 kg, respectivamente; peso médio do fruto igual ou superior a 3 g; número de frutos por racemo superior a 10, teor de sólidos solúveis totais igual ou superior a 12 °Brix.

Estão sendo avaliados semestralmente os seguintes caracteres morfológicos: altura de planta (H, m), medida da base do caule ao nível do solo e a extremidade do ramo mais alto; diâmetro do caule (DC, cm), medida da base do caule ao nível do solo; volume de copa (VC, m³), obtido segundo Mendel (1956) por meio da fórmula $V = 2/3 \cdot \pi R^2 H$, em que V é o volume (m³), R é o raio da copa (m) e H é a altura da planta (m). No período de safra, os seguintes caracteres produtivos são avaliados: número de frutos por racemo (NFC, n), obtido pela média da contagem em 10 cachos; peso médio de um fruto (PMF, g), obtido pela média da pesagem de 10 frutos; peso total de frutos (PTF, kg), pesagem de todos os frutos da planta; produtividade (PROD, kg/ha), obtida por meio de pesagens de todos os frutos provenientes da área útil de cada clone, estimando-se em kg/ha; eficiência da produção (EP), de acordo com Stenzel et al. (2005), calculada dividindo-se o valor da produção (PROD) pelo volume de copa (VC).

Os caracteres morfológicos e produtivos são registrados individualmente para cada planta dentro das parcelas experimentais (dados brutos).

Ainda será obtido o teor de sólidos solúveis totais (SST, °Brix), que será determinado por meio de refratometria digital (PROTRADE, 1995), com compensação de temperatura automática (escala de 0% a 32%). Será obtida a polpa de frutos de cada clone, que será processada, homogeneizada e coada em papel de filtro em um erlenmeyer para a obtenção do suco. Algumas gotas serão retiradas com uma pipeta, para a realização de três leituras, por meio das quais será obtido o valor médio do teor de SST para cada clone.

Posteriormente, todos os caracteres avaliados serão analisados estatisticamente e geneticamente, seguindo as recomendações de Gomes (1990) e utilizando-se o aplicativo computacional Programa Genes (CRUZ, 2006).

Serão realizadas análises de variância individuais por ambiente e, verificando-se a significância das mesmas, os dados dos ambientes serão agrupados e será realizada uma análise conjunta para se avaliar os efeitos da interação genótipos x ambientes, em que será possível identificar preliminarmente os genótipos mais produtivos em cada ambiente e o ambiente que possibilita a maior produção para o murucizeiro. Análises de correlação entre caracteres, estimativas de parâmetros genéticos e importância de caracteres para a seleção também serão obtidas (CRUZ, 2006).

Estudos preliminares baseados em avaliações que vem sendo realizadas desde 2012 já permitem observar a variabilidade genética existente entre os genótipos de murucizeiro estudados (COSTA et al., 2014).

No experimento localizado no Município de Igarapé-açu, pôde-se avaliar o desenvolvimento vegetativo dos clones de murucizeiro em seu primeiro ano após o plantio, por meio dos caracteres morfológicos, uma vez que as plantas ainda não iniciaram o período reprodutivo. Houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey, para os caracteres altura de planta (Figura 6) e volume de copa (Figura 7). Para AP, os tratamentos que se destacaram foram São José (1,76 m), Cristo (1,61 m) e Maracanã-2 (1,59 m). Este último também se destacou para VC (3,09 m³).

No experimento de Tomé-Açu, procurou-se identificar quais clones aproximavam-se do ideótipo do murucizeiro, isto é, um clone que apresentasse número de frutos por racemo (NFR) superior a 10 e peso médio do fruto (PMF) igual ou superior a 3,0 g. Nesse experimento, os tratamentos que estiveram mais próximo da meta para NFR (Figura 8) foram Santarém-1 (8,3) e Igarapé-açu-1 (9,7). Os que atingiram a meta para PMF (Figura 9) foram Açu (3,7 g) e São José (3,0 g).

No experimento de Belém, os tratamentos que estiveram mais próximo do NFR ideal (Figura 10) no início do período chuvoso (novembro de 2013) foram os clones Açu (7,3 frutos), Santarém-2 (6,7), Igarapé-Açu-1 (6,4) e Santarém-1 (6,0). Ao final do período chuvoso (maio de 2014), o NFR foi de no máximo 4,8 frutos para os clones Santarém-2 e Tocantins-1. Os que atingiram a meta de 3 g para PMF (Figura 11) foram os clones Santarém-1, Tocantins-1 e Tocantins-2. Os genótipos que ultrapassaram a meta de 3 g por fruto foram os clones Açu (4,4 g), seguido do Guataçara (3,2) e São José (3,1).

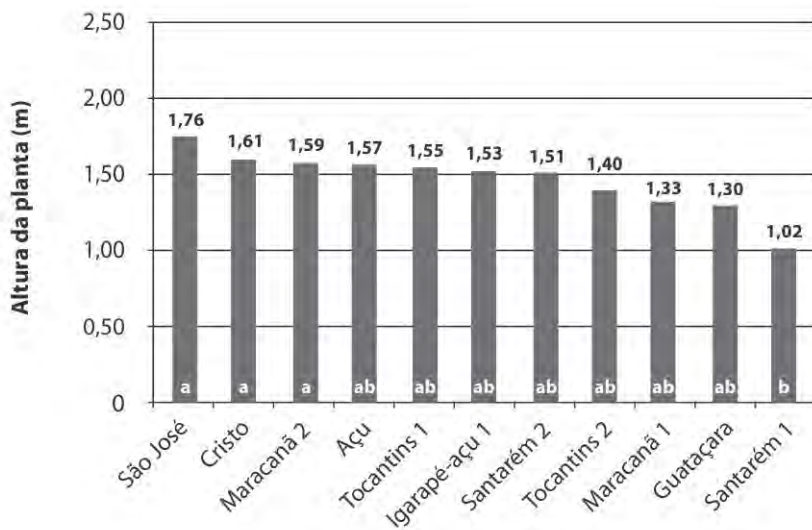


Figura 6. Altura da planta (m) em clones de murucizeiro no experimento de Igarapé-Açu.

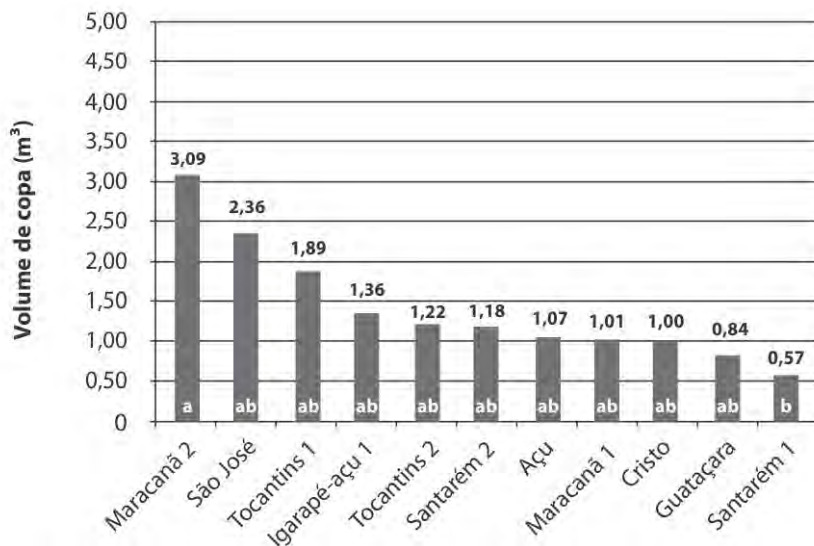


Figura 7. Volume de copa (m³) em clones de murucizeiro no experimento de Igarapé-Açu.

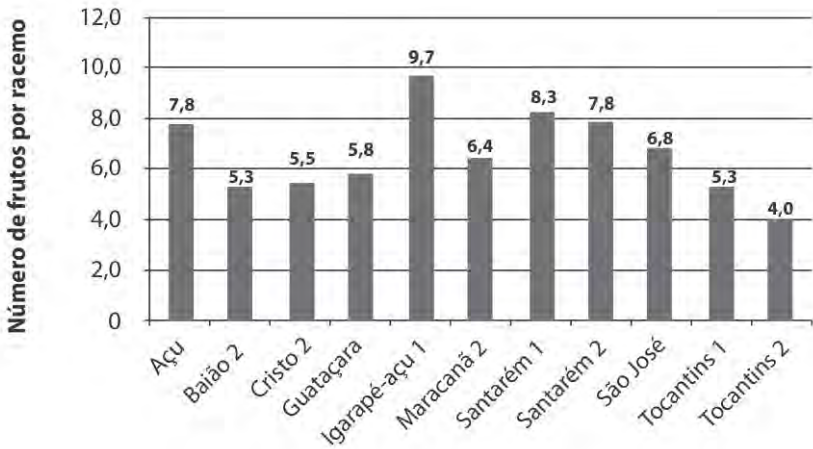


Figura 8. Número de frutos por racemo em clones de murucizeiro avaliados no terceiro ano de produção do experimento de Tomé-Açu.

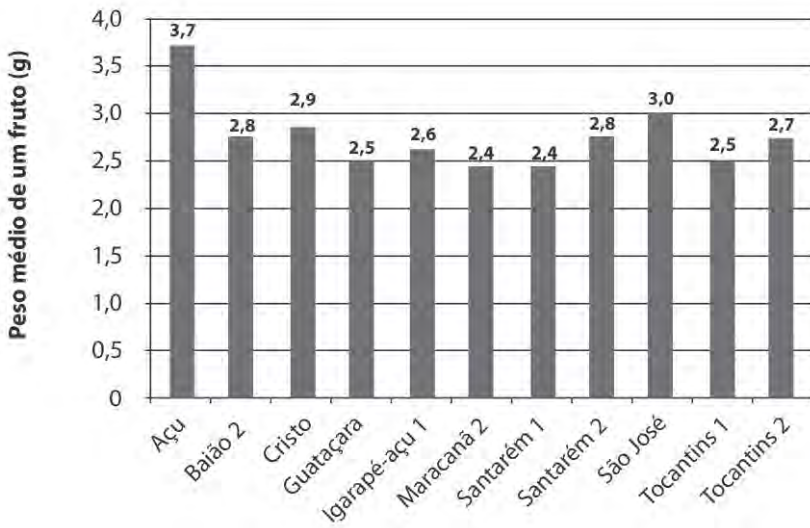


Figura 9. Peso médio de um fruto (g) em clones de murucizeiro avaliados no terceiro ano de produção do experimento de Tomé-Açu.

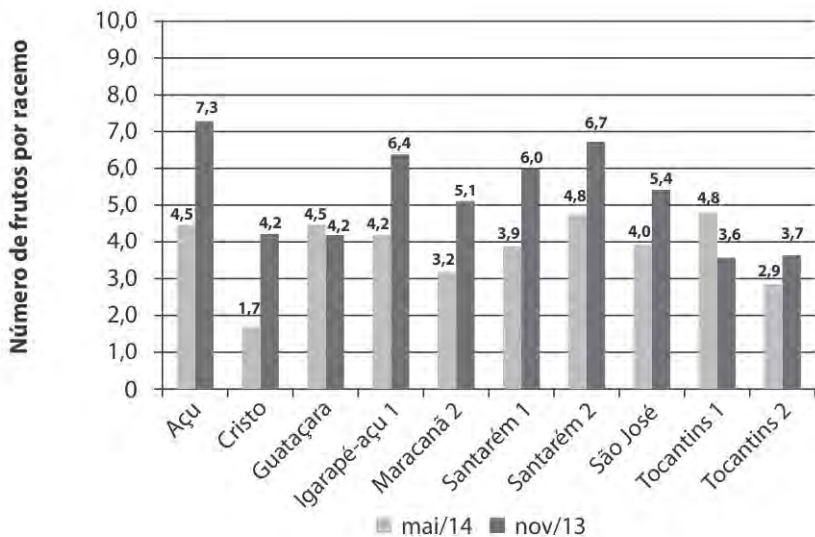


Figura 10. Número de frutos por racemo em clones de murucizeiro avaliados no início (novembro de 2013) e final (maio de 2014) do período chuvoso no experimento de Belém.

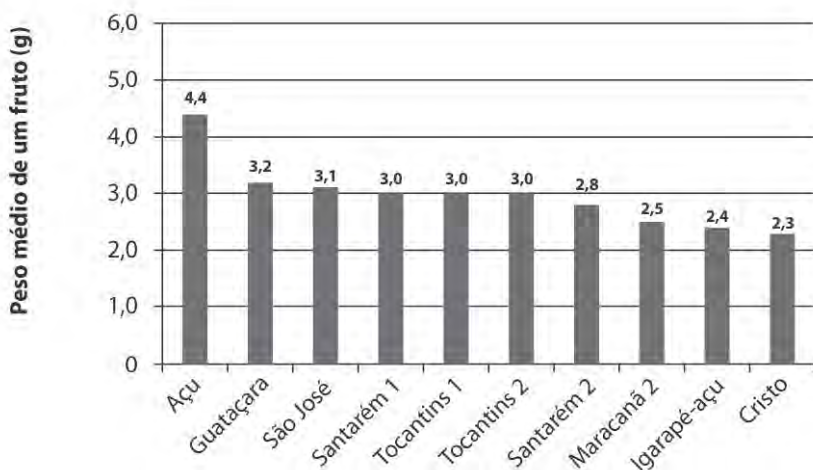


Figura 11. Peso médio de um fruto (g) em clones de murucizeiro, no experimento de Belém.



Por meio dos estudos da variabilidade genética entre os clones de murucizeiro para caracteres morfológicos e de produtividade, bem como da variação no desempenho dos clones em função do ambiente de cultivo, espera-se que em um prazo de 5 anos se possa identificar pelo menos um clone com ampla adaptação para os ambientes em que estão sendo cultivados.

Do ponto de vista econômico, a seleção de genótipos mais produtivos de murucizeiro proporcionará incremento na renda do produtor, o que beneficiará não somente a este, mas também toda a cadeia produtiva, bem como os demais setores da economia que se beneficiam do cultivo dessa frutífera. O cultivo desses clones recomendados contribuirá também para a redução do extrativismo praticado na região, além de tornar uma alternativa real de renda para assentados e pequenos agricultores e conseqüente melhoria da qualidade de vida.



O murucizeiro [*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.]: avanços no conhecimento e ações de pré-melhoramento

Referências

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. 6. ed. Viçosa: Ed. da UFV, 2013. 523 p.

CLEMENT, C. R. 1492 and the loss of Amazonian crop genetic resources. I. The relation between domestication and human population decline. **Economic Botany**, v. 53, n. 2, p. 188-202, 1999.

COSTA, R. R. da S.; GURGEL, F. de L.; NASCIMENTO, W. M. O. do; CARVALHO, J. E. U. de. Estudos preliminares para a seleção de clones de murucizeiro. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 18.; SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 2., 2014, Belém, PA. **Anais...** Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2014. 1 CD-ROM.

CRUZ, C. D. **Programa GENES: análise multivariada e simulação**. 1. ed. Viçosa, MG: Ed. da UFV, 2006. v. 1, 175 p.

GOMES, F. P. Os testes ou provas de significância. In: GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 13. ed. Piracicaba: Nobel, 1990. p.18-41.

LOURENÇO, I. P.; FIGUEIREDO, R. W. de; ALVES, R. E.; ARAGÃO, F. A. S. de; MOURA, C. F. H. Caracterização de frutos de genótipos de murucizeiro cultivados no litoral cearense. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 3, p. 499-504, jul./set. 2013.

MENDEL, K. Rootstock-scion relationships in Shamouti trees on light soil. **Ktavim**, v. 6, p. 35-60, 1956.

PROTRADE, J. B. **Melons-Export Manual: tropical fruits and vegetables**. Eschborn: GTZ, 1995. 36 p.

STENZEL, N. M. C.; NEVES, C. S. V. J.; GONZALEZ, M. G. N.; SCHOLZ, M. B. S.; GOMES, J. C. Desenvolvimento vegetativo, produção e qualidade dos frutos da laranjeira 'Folha Murcha' sobre seis porta-enxertos no Norte do Paraná. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1281-1286, nov./dez. 2005.

Aplicações de marcadores moleculares em *Byrsonima crassifolia*

Simone de Miranda Rodrigues
Elisa Ferreira Moura Cunha
Maria do Socorro Padilha de Oliveira



O uso de marcadores moleculares em espécies vegetais pode auxiliar no estudo da diversidade genética ao verificar a forma de distribuição da variação genética entre e dentro de populações naturais e os locais de maior ocorrência de variação. Também pode contribuir para inferir acerca da forma de reprodução das espécies. Os marcadores podem indicar locais no quais está ocorrendo maior incidência de cruzamentos entre aparentados, taxas de fluxo gênico entre as populações e relações entre os componentes da população. Além disso, auxiliam no melhoramento genético ao determinar a variação existente nas coleções/bancos de germoplasma, no direcionamento de cruzamentos, em testes de paternidade, verificação de métodos que geram variabilidade, seleção assistida por marcadores e obtenção de marcas que possam descrever clones/variedades/cultivares recomendadas. Dessa forma, o uso de marcadores moleculares em *Byrsonima crassifolia* pode contribuir em diversos aspectos.

Pesquisas em relação ao sistema reprodutivo indicam que espécies do gênero *Byrsonima* apresentam autogamia, alogamia e sistema misto (BENEZAR; PESSONI, 2006). No caso de *B. crassifolia*, o sistema misto garante alto nível de adaptabilidade às condições ambientais e permite a colonização de novas áreas, mantendo elevado potencial evolutivo (SCARIOT et al., 1991). Para determinar a variabilidade genética de espécies, descritores morfológicos têm sido usados com muito sucesso, porém apresentam limitações quanto à quantidade e influência do ambiente. Por apresentarem alto potencial para discriminação de indivíduos, melhoristas têm utilizado marcadores moleculares focados em sequências de DNA para análises de divergência genética dentro e entre populações, sendo

estes universais e não afetados pelo ambiente. Esses tipos de marcadores permitem ampla amostragem do genoma de um indivíduo. Assim, mutações que ocorrem em regiões não codificadoras de genes podem ser identificadas por meio da análise de DNA com base em técnicas de *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (TOPPA; JADOSKI, 2013).

O termo *fingerprinting* ou impressão digital tem sido utilizado para descrever o padrão molecular de um genótipo. O fato de os marcadores moleculares disponibilizarem um número quase ilimitado de descritores de DNA disponíveis e possibilitarem o amplo acesso da variabilidade genética em diversas espécies vegetais torna esses descritores de elevada importância para a caracterização de cultivares. Entre as várias aplicações dos marcadores de DNA, estão os estudos de divergência genética em populações, confecção de mapas genéticos de ligação e o uso em QTLs (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1988; PEREIRA; LEE, 1995), além de ser uma ferramenta importante em trabalhos de seleção assistida por marcadores e ser o primeiro passo para proteger legalmente uma nova cultivar (DAROS et al., 2002). Também podem ser utilizados na identificação de híbridos, determinação da estrutura populacional e variabilidade genética entre indivíduos de populações selvagens e cultivados.

Apesar da importância econômica de *Byrsonima*, ainda são poucos os estudos utilizando marcador molecular para a espécie. O primeiro artigo publicado contendo avaliações moleculares para murucizeiro foi com o marcador molecular *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), que utiliza enzimas de restrição para fragmentar o DNA genômico e não exige conhecimento prévio do genoma a ser avaliado. No trabalho apresentado por Raya-Pérez et al. (2010), ao avaliarem árvores silvestres e cultivadas de *B. crassifolia* na região de Uruapan, no México, o marcador AFLP gerou 172 bandas, revelando elevado grau de similaridade entre 25 das 27 árvores amostradas, com tendência de subagrupamento dos indivíduos de acordo com o local de amostragem. O mais relevante a ser observado é que não houve diferença genética significativa entre os tipos de árvores silvestres e cultivadas que se esperava estarem fortemente separados. Os autores afirmam que apesar das diferenças morfológicas encontradas entre as formas silvestres e cultivadas, o estudo indicou informações genéticas semelhantes entre os grupos e que o processo de domesticação é recente, não havendo forte divergência genética entre os indivíduos avaliados com o uso desse marcador.

Benezar (2006) analisou a diversidade genética entre e dentro de três populações naturais de murucizeiros nas savanas de Roraima, utilizando marcador *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). Esses marcadores amplificam aleatoriamente segmentos de DNA de uma grande variedade de espécies e, apesar de suas limitações, têm se mostrado importantes na avaliação da constituição genética de diferentes espécies vegetais. Oito *primers* foram testados em um total de 97 indivíduos (37 área I, 30 área II e 30 área III), mas apenas três foram eficientes para discriminar as três populações estudadas, com 29, 43 e 9 locos polimórficos, respectivamente. Essa mesma população foi avaliada para caracteres morfológicos por Benezar (2004) e, naquele momento, classificou diferentes genótipos como pertencentes a um mesmo grupo, sendo os dados de RAPD avaliados por análise de Tocher, e o marcador sendo capaz de diferir, separar e reagrupar genótipos.

Para a espécie *Byrsonima cydoniifolia*, pertencente ao mesmo gênero de muruci, Bizão et al. (2010) verificaram a diversidade genética utilizando AFLP. Foi avaliada a diversidade genética de uma amostra de 120 plantas provenientes de quatro populações nativas dessa espécie, provenientes da região do Médio Araguaia, Município de Barra do Garças, MT. Foram utilizadas 24 combinações de *primers*, os quais produziram 140 bandas. Pela técnica de agrupamento do vizinho mais próximo, houve a formação de oito grupos distintos, em que no grupo I se enquadraram 113 indivíduos provenientes de todas as quatro populações e os outros sete grupos foram constituídos por um único indivíduo cada. Esses resultados permitiram que os autores concluíssem que as populações nativas de *B. cydoniifolia* possuem grande variabilidade entre e dentro de populações, de forma que qualquer uma das populações pode ser utilizada visando fins de seleção, domesticação e melhoramento genético.

A primeira publicação científica utilizando marcadores RAPD ocorreu em 2013 e enfocou a caracterização molecular de árvores de *B. crassifolia* encontradas em dois municípios no Estado de Tabasco, no México (MARTÍNEZ et al., 2013). Foram avaliados seis *primers*, dos quais quatro amplificaram e destes, três apresentaram polimorfismo. A diversidade genética foi maior dentro (85,20%) do que entre as populações (14,80%), sendo a técnica considerada útil para identificar a variação genética dessa espécie. Os resultados apresentados apresentaram certa coincidência com os relatados por Martínez-Moreno et al. (2006), que caracterizaram morfometricamente frutos de muruci e descobriram que os materiais avaliados formaram grupos bem definidos, com base na cor da fruta,

enquanto a pesquisa usando RAPD mostrou que apenas um dos grupos genéticos foi constituído de árvores que possuíam a mesma cor dos frutos. Segundo Martínez et al. (2013), o baixo polimorfismo encontrado indicou que a variabilidade genética foi pequena para o material avaliado e que os *primers* RAPD usados no estudo apresentaram baixa eficiência para reconhecer regiões homólogas no DNA das plantas avaliadas.

Considerando a importância da espécie, Croft e Schaal (2012) desenvolveram marcadores microssatélites (SSRs) para *B. crassifolia*. *Simple Sequence Repeats* (SSRs) compreendem uma classe de DNA repetitivo composto de pequenas sequências de 1 a 4 nucleotídeos repetidos adjacentes que se encontram dispersos no genoma (SCHLÖTTERER; PEMBERTON, 1998), e constitui um locus genético altamente variável, multialélico e de grande conteúdo informativo (SUNNUCKS, 2000). Neste estudo, foi relatado o desenvolvimento e a caracterização de dez loci microssatélites, sendo dois monofórmicos para a população testada. Também foram avaliados para um indivíduo de quatro espécies pertencentes ao gênero *Byrsonima*, *B. basiloba* A. Juss, *B. bucidaefolia* Standl, *B. variabilis* A. Juss e *B. verbascifolia* (L.) DC. A amplificação foi bem sucedida para todos loci em *B. basiloba* e *B. variabilis*, para quatro loci em *B. bucidaefolia*, e por sete loci em *B. verbascifolia*. A observação de heterozigose em *B. bucidaefolia*, *B. variabilis* e *B. verbascifolia* pode indicar substancial polimorfismo nesses loci nessas espécies, embora todos os loci em *B. basiloba* tenham sido homozigotos. Esses loci irão fornecer novas ferramentas para comparação de diversidade genética entre populações cultivadas e não cultivadas de *B. crassifolia*, além de revelar-se útil para espécies relacionadas.

O desenvolvimento de marcadores SSRs requer infraestrutura moderna e pessoal treinado, encarecendo o desenvolvimento dessas marcas moleculares. Portanto, a transferibilidade de *primers* entre espécies aparentadas (mesmo gênero ou mesma família) pode ser uma alternativa para redução dos custos dessa técnica. Avaliando esse aspecto, Bernardes et al. (2013, 2014) desenvolveram e caracterizaram 17 marcadores SSRs para *B. cydoniifolia*, permitindo investigações mais aprofundadas da variação genética em populações naturais para essa espécie. Entre as marcas avaliadas, 14 foram polimórficas, sendo 11 consideradas adequadas e com bom padrão de amplificação para sequenciamento e 3 monomórficas para os indivíduos avaliados. Entre os polimórficos, foram obtidos de 3 a 17 alelos por locus. Analisando a possibilidade de transferibilidade de marcas moleculares entre espécies relacionadas, esses autores selecionaram

nove SSRs com potencial para serem utilizados em estudo populacionais de *B. crassifolia*. Todos os loci foram polimórficos, sem alelos nulos e sem desvio de Equilíbrio de Hardy-Weinberg, indicando a possibilidade de transferibilidade de marcas moleculares SSRs entre espécies desse gênero (BERNARDES et al., 2013).

Também, em razão da importância de *B. crassifolia*, a Embrapa Amazônia Oriental iniciou pesquisas utilizando marcadores moleculares *Inter Single Sequence Repeats* (ISSR) para caracterizar sua coleção de germoplasma. É um método baseado em microssatélite, que utiliza *primers* complementares a sequências de microssatélites. Os fragmentos amplificados correspondem à sequência de DNA delimitada por dois microssatélites invertidos, sendo empregados para a diferenciação rápida entre indivíduos próximos, por causa do elevado grau de polimorfismo, reprodutibilidade e baixo custo (GODWIN et al., 1997).

Na primeira etapa, objetivou-se selecionar *primers* que forneçam os melhores fragmentos polimórficos para os clones de muruci da Embrapa, totalizando pelo menos 100 bandas polimórficas. Nessa etapa, foram usados 5 clones para serem testados com 100 *primers* ISSRs (801 a 900). Foram selecionados 24 *primers* de acordo com a presença de polimorfismos (Tabela 1). Os demais foram monofórficos ou não apresentaram produtos de boa qualidade, sendo descartados dessa etapa de seleção (RAMOS et al., 2013a).

Tabela 1. *Primers* ISSR selecionados para cinco clones de murucizeiro.

<i>Primer</i>	Número de bandas polimórficas	<i>Primer</i>	Número de bandas polimórficas
808	5	844	3
809	4	845	5
811	5	846	6
812	5	848	6
813	4	850	4
814	5	855	4
815	2	856	4
825	5	857	6
826	4	858	3
835	6	888	5
836	4	889	4
843	4	890	4
Média 4,5			

Na segunda etapa, objetivou-se otimizar as PCR-ISSR usando reações em gradiente para identificar a melhor temperatura de anelamento para cada primer pré-selecionado (RAMOS et al., 2013b). Alguns trabalhos verificaram a necessidade de estudo para determinação de temperatura para adequar amplificação de DNA usando ISSR (MORAGA-SUAZO et al., 2012; SOUZA et al., 2008). Foram utilizados dois clones de murucizeiro, Açú e Maracanã-2, sendo testadas 18 temperaturas de anelamento nas PCR-ISSR (47 °C a 64 °C). As temperaturas de anelamento selecionadas para cada *primer* resultaram em melhor nitidez, intensidade e capacidade de discriminação das bandas em gel (Figura 1). A maior temperatura de anelamento selecionada foi 60 °C para os *primers* ISSR-888, ISSR-889 e ISSR-890; a menor temperatura usada selecionada foi de 47 °C para os *primers* ISSR-847 e ISSR-848; a temperatura de anelamento de 53 °C apresentou melhor qualidade de amplificação para o maior número de *primers* (Tabela 2).

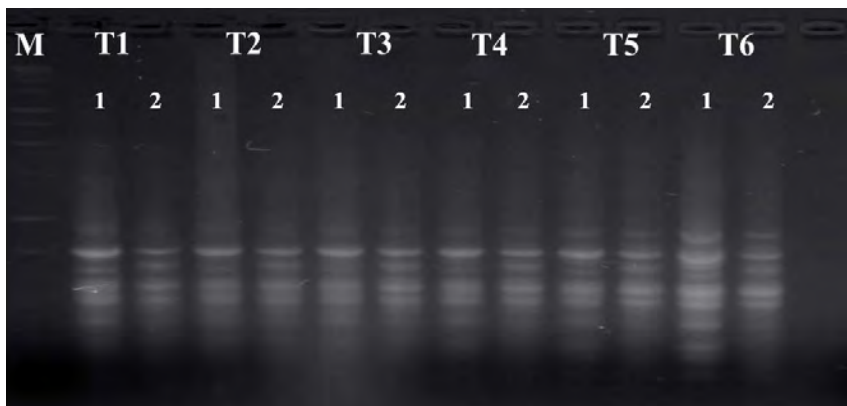


Figura 1. Gradiente de temperatura apresentado para o ISSR 826 usando DNA de 2 clones de muruci (1: Açú e 2: Maracanã-2) (T1= 47 °C, T2=48 °C, T3=49 °C, T4=50 °C, T5=51 °C, T6=52 °C). M é marcador de peso molecular.

Tabela 2. Temperatura ideal de anelamento para *primers* ISSRs selecionados para murucizeiro.

<i>Primer</i>	Temperatura escolhida	<i>Primer</i>	Temperatura escolhida
808	50 °C	844	56 °C
809	57 °C	845	48 °C
811	53 °C	846	52 °C
812	49 °C	848	47 °C

continua...

Tabela 2. Continuação.

<i>Primer</i>	Temperatura escolhida	<i>Primer</i>	Temperatura escolhida
813	53 °C	850	47 °C
814	49 °C	855	53 °C
815	49 °C	856	52 °C
825	52 °C	857	53 °C
826	52 °C	858	53 °C
835	52 °C	888	60 °C
836	56 °C	889	60 °C
843	53 °C	890	60 °C
Média 52,75 °C			

Os *primers* ISSRs 808 (50 °C), 809 (57 °C), 811 (53 °C), 835 (52 °C) e 836 (56 °C) apresentaram temperaturas semelhantes às encontradas em estudos apresentados por Preczenhak (2013), cuja temperatura foi de 50 °C, 55 °C, 53 °C, 54 °C, 53 °C, respectivamente. Gomes et al. (2012) encontrou a mesma temperatura de anelamento para o ISSR 845 (48 °C). Entretanto, para os ISSR 850 (47 °C), 888 (60 °C), 888 (60 °C), 889 (60 °C) e 890 (60 °C) foram relatadas temperaturas diferentes na literatura consultada. Nesse sentido, os *primers* selecionados possuem potencial para análise de divergência genética entre os genótipos de murucizeiro pertencentes à coleção da Embrapa Amazônia Oriental e deverão ser utilizados para tal fim, assim como também em estudos populacionais envolvendo populações cultivadas e não cultivadas dessa espécie.

Referências

BENEZAR, R. M. C. **Diversidade genética dentro e entre populações de murucizeiros (*Byrsonima crassifolia* L.-Kunth)**. 2004. 36 f. Monografia (Especialização em Recursos Naturais) – Programa de Pesquisa e Pós-graduação em Recursos Naturais, Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, RR.

BENEZAR, R. M. C. **Sistema reprodutivo e diversidade genética de populações naturais de murucizeiros (*Byrsonima crassifolia* L.-Kunth.) nas savanas de Roraima**. 2006. 67 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, RR.

BENEZAR, R. M. C.; PESSONI, L. A. Biologia floral e sistema de *Byrsonima coccolobifolia* (Kunth.) em uma savana Amazônica. **Acta Amazônica**, v. 36, n. 2, p. 159-168, 2006.

BERNARDES, V.; ANJOS, D. E.; GONDIM, S. G. C. A.; BIZÃO, N.; MURAKAMI, D. M.; TELLES, M. P. C. Isolation and characterization of microsatellite markers for *Byrsonima cydoniifolia* (Malpighiaceae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 59., 2013, Águas de Lindóia. **Resumos...** Ribeirão Preto: SBG, 2013.

BERNARDES, V.; ANJOS, D. E.; GONDIM, S. G. C. A.; MURAKAMI, D. M.; BIZÃO, N.; TELLES, M. P. C. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Byrsonima cydoniifolia* (Malpighiaceae) and cross-amplification in *B. crassifolia*. **Applications in Plant Sciences**, v. 2, n. 5, 1400016, 2014.

BIZÃO, N.; MURAKAMI, D. M.; LEMOS, E. G. de M.; PEREIRA JR, H. A. Estudo da diversidade genética de *Byrsonima cydoniifolia* (Malpighiaceae) através da faFLP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 56., 2010, Guarujá. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2010. p. 73.

CROFT, G. K.; SCHAAL, B. A. Development of microsatellite markers in *Byrsonima crassifolia* (Malpighiaceae). **American Journal of Botany**, v. 99, p. e1111-e1113, 2012.

DAROS, M.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; PEREIRA, T. N. S.; LEAL, N. R.; FREITAS, S. P.; SEDIYAMA, T. Caracterização morfológica de acessos de batata-doce. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 43-47, 2002.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília, DF: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220 p. (EMBRAPA CENARGEN. Documentos, 20).

GODWIN, I. D.; AITKEN, E. A. B.; SMITH, L. W. Application of inter simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics. **Electrophoresis**, v. 18, n. 9, p. 1524-1528, 1997.

GOMES, S. O.; MENDES, R. F. de M.; LIMAS, P. S. da C. Determinação da temperatura de anelamento com marcadores ISSR em acesso de Pinhão-manso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 2., 2012, Belém, PA. **Anais...** Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos, 2012. 1 CD-ROM. v. 2, p. 1-4.

MARTÍNEZ, M. E.; LESHER G., J. M.; CASTAÑÓN N, G.; CRUZ L., E. de la; ZAPATA H., C. Genetic variability of nanche in Tabasco, Mexico, determined with RAPDs. **Phyton: International Journal of Experimental Botany**, v. 82, p. 209-214, 2013.

MARTÍNEZ-MORENO, E. T.; CORONA-TORRES, E.; AVITIA-GARCÍA, A. M.; CASTILLO-GONZÁLEZ, T.; TERRAZAS-SALGADO; COLINAS-LEÓN, M. T. Caracterización morfológica de frutos y semillas de nanche (*Byrsonima crassifolia* (L.) H. B. K.). **Revista Chapingo serie Horticultura**, v. 12, n. 1, p. 11-17, 2006.

MORAGA-SUAZO, P.; HASBÚN, R.; BALOCCHI, C.; VALENZUELA, S. Establishment and optimization of ISSR and SAMPL molecular markers as a tool for breeding programs of *Pinus radiata*. **Bosque**, v. 33, n. 1, p. 93-98, 2012.

PEREIRA, M. G.; LEE, M. Identification of genomic regions affecting plant height in sorghum and maize. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 90, n. 3/4, p. 380-388, 1995.

PRECZENHAK, A. P. **Diversidade genética estimada por meio de marcadores moleculares e morfoagronômicos em acessos de mini-tomate**. 2013. 67 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Agronomia) – Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava.

RAMOS, G. K. L.; RODRIGUES, S. M.; CUNHA, E. F. M.; CARVALHO, J. E. U. Seleção de *primers* ISSR para genotipagem de murici. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 17.; SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 1., 2013, Belém, PA. **Anais...** Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2013a.

RAMOS, G. K. L.; RODRIGUES, S. M.; OLIVEIRA, M. S. P.; NASCIMENTO, W. M. O. Otimização de PCR-ISSR para amplificação de DNA genômico de *Byrsonima crassifolia*. In: SEMINÁRIO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRA, 11., 2013, Belém, PA. **Anais...** Belém, PA: Universidade Federal Rural da Amazônia, 2013b.

RAYA-PÉREZ, J. C.; AGUIRRE-MANCILLA, C. L.; GIL-VEJA, K.; SIMPSON, J. La domesticación de plantas en México: Comparación de la forma cultivada y silvestre de *Byrsonima crassifolia* (Malpighiaceae). **Polibotánica**, n. 30, p. 239-256, 2010.

SCARIOT, A. O.; LLERAS, E.; HAY, J. D. Reproductive biology of the palm *Acrocomia aculeata* in Central Brazil. **Biotropica**, v. 23, n. 1, p. 12-22, 1991.

SCHLÖTTERER, C.; PEMBERTON, J. The use of microsatellites for genetic analysis of natural populations – a critical review. In: DeSALE, R.; SCHIERWATER, B. (Ed.). **Molecular approaches to ecology and evolution**. [S.l.]: Birkhäuser Basel, 1998. p. 71-86.

SOUZA, G. A.; CARVALHO, M. R. O.; MARTINS, E. R.; GUEDES, R. N. C.; OLIVEIRA, L. O. Diversidade genética estimada com marcadores ISSR em populações brasileiras de *Zabrotes subfasciatus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 7, p. 843-849, 2008.



O murucizeiro [*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.]: avanços no conhecimento e ações de pré-melhoramento

SUNNUCKS, P. Efficient genetic markers for population biology. **Trends Ecology Evolution**, v. 15, n. 5, p. 199-203, 2000.

TOPPA, E. V. B.; JADOSKI, C. J. O uso dos marcadores moleculares no melhoramento genético de plantas. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 12, n. 1, p.1-5, 2013.

Embrapa

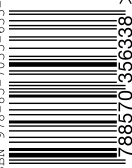
Amazônia Oriental



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



ISSN 978-85-7035-633-8



CGPE 13156