



**VARIABILIDADE GENÉTICA E
ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS
GENÉTICOS EM GERMOPLASMA DE
GUARANAZEIRO**

NELCIMAR REIS SOUSA

2003

NELCIMAR REIS SOUSA

**VARIABILIDADE GENÉTICA E ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS
GENÉTICOS EM GERMOPLASMA DE GUARANAZEIRO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do programa de Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de “Doutor”.

Orientador
Prof. Dr. João Bosco dos Santos

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2003

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Sousa, Nelcimar Reis

Variabilidade genética e estimativas de parâmetros genéticos em
germoplasma de guaranazeiro / Nelcimar Reis Sousa -- Lavras : UFLA, 2003.
99 p. : il.

Orientador: João Bosco dos Santos.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Guaraná. 2. Espécie amazônica. 3. RAPD. 4. Divergência genética. 5.
Parâmetro genético. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.73

NELCIMAR REIS SOUSA

**VARIABILIDADE GENÉTICA E ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS
GENÉTICOS EM GERMOPLASMA DE GUARANAZEIRO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do programa de Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 06 de novembro de 2003

Dra. Aparecida das Graças Claret de Souza	Embrapa Amazônia Ocidental
Prof. Dr. César Augusto Brasil Pereira Pinto	UFLA
Prof. Dr. Daniel Furtado Pereira	UFLA
Prof. Dra. Dulcinéia de Carvalho	UFLA

Prof. Dr. João Bosco dos Santos
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

Dedico...

*Aos meus pais, que, desde o princípio, me ensinaram a acreditar no
valor do conhecimento (in memoriam).*

Aos meus irmãos e sobrinhos.

E aos amigos, pelos incentivos e momentos de descontração.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela iluminação e superação de obstáculos para concluir este curso com êxito.

A Embrapa, pela oportunidade de renovação de conhecimentos.

À Universidade Federal de Lavras, pela oferta do curso.

Aos meus irmãos e sobrinhos pelo incentivo e confiança.

Aos chefes e funcionários da Embrapa Amazônia Ocidental, pelo apoio irrestrito durante o curso.

A Aparecida das Graças C. de Souza pela amizade e aconselhamento acadêmico.

Aos melhoristas do guaraná André Atroch e Firmino José do Nascimento Filho pelo apoio logístico da pesquisa.

À curadora do Banco de Germoplasma de Guaraná Regina Quinzen pelo material e apoio de Laboratório.

Ao funcionário da Embrapa Amazônia Ocidental, Manoel Alvino (Neca), pela amizade e ajuda incondicional nas atividades de campo.

Ao Prof. João Bosco dos Santos, pelos ensinamentos e orientação.

Aos professores César Augusto Brasil Pereira Pinto e Magno Pato Ramalho, pela constante disposição de conhecimentos durante o curso.

Ao Prof. Daniel Furtado, pelas importantes contribuições na análise estatística.

Ao laboratorista Lamartine, pela ajuda e otimismo durante a minha estadia no Laboratório de Genética Molecular da UFLA.

Aos colegas José Airton e Edson, pela ajuda na análise dos dados e manuseio de aplicativos computacionais.

Aos demais colegas de curso e funcionários do Departamento de Biologia.

À secretária do curso de pós-graduação Elaine, pela amizade e colaboração durante o curso.

Aos amigos de curso Eduardo Lambert, Elisa, Gilvan, Janaína, Juliano, Fábio, Máira, Patrícia, Roselaine e Sandro pelos momentos de descontração.

Aos amigos que foram imprescindíveis no combate aos estresses da adaptação inicial ao ambiente lavrense Gilvan Martins, Fátima, Edilson, Anne, Michela, Pedro Hélio e Meyres.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

Às amigas da Embrapa propositalmente lembradas por último, Concita, Gladys, Larissa e Neuza.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 Introdução.....	1
2 Referencial teórico.....	4
2.1 Guaranazeiro.....	4
2.1.1 Origem e domesticação.....	4
2.1.2 Botânica e sistema reprodutivo.....	6
2.1.3 Variabilidade fenotípica.....	7
2.2 Conservação de germoplasma.....	10
2.3 Avaliação de germoplasma.....	11
2.3.1 Avaliação molecular.....	12
2.3.1.1 Marcadores moleculares.....	13
2.3.1.2 Análise da variação molecular.....	14
2.3.1.3 Análise de agrupamento.....	14
2.3.2 Avaliação fenotípica.....	15
2.3.2.1 Análise multivariada.....	16
2.3.2.2 Análise da divergência genética.....	17
2.3.2.3 Análise de agrupamento.....	18
2.3.2.4 Parâmetros genéticos.....	18
3 Referências bibliográficas.....	22
CAPÍTULO 1 - DIVERGÊNCIA GENÉTICA EM GERMOPLASMA DE GUARANAZEIRO.....	30
Resumo.....	31
Abstract.....	32
1 Introdução.....	33
2 Material e métodos.....	35
2.1 Avaliação molecular.....	35
2.1.1 Material vegetal.....	35
2.1.2 Extração de DNA.....	36
2.1.3 Amplificação de DNA.....	37
2.1.4 Análise da variação de RAPD.....	38
2.2 Avaliação fenotípica.....	39
2.2.1 Material e delineamento experimental.....	39
2.2.2 Caracteres avaliados.....	40
2.2.3 Análise de dados.....	41
2.2.3.1 Análise de variância univariada.....	41
2.2.3.2 Análise de variância multivariada.....	42

2.2.4	Análise da divergência genética.....	43
2.2.4.1	Estimação das distâncias genéticas.....	43
2.2.4.2	Análise de agrupamento.....	43
2.2.4.3	Importância relativa dos caracteres para divergência genética.....	44
2.3	Correlação entre dados de RAPD e dados fenotípicos.....	44
3	Resultados e discussão.....	45
3.1	Análise dos dados de RAPD.....	45
3.2	Análise de variação molecular.....	46
3.3	Avaliação fenotípica.....	52
3.3.1	Análise de variância univariada.....	52
3.3.2	Análise de variância multivariada.....	54
3.3.3	Distância generalizada de Mahalanobis.....	54
3.3.4	Análise de agrupamento.....	55
3.3.4.1	Método de otimização de Tocher.....	55
3.3.4.2	Método hierárquico UPGMA.....	58
3.3.5	Importância relativa dos caracteres.....	59
3.4	Correlação entre dados de RAPD e fenotípicos.....	61
4	Conclusões.....	62
5	Referências bibliográficas.....	63

**CAPÍTULO 2 - ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS
EM CARACTERES DE FRUTOS DE GUARANAZEIRO..... 67**

	Resumo.....	68
	Abstract.....	69
1	Introdução.....	70
2	Material e métodos.....	72
2.1	Material experimental.....	72
2.2	Caracteres avaliados.....	73
2.3	Análise de dados.....	73
2.3.1	Análise de variância.....	74
2.3.2	Estimação de parâmetros genéticos.....	75
3	Resultados e discussão.....	77
3.1	Análise de variância.....	77
3.2	Parâmetros genéticos.....	78
4	Conclusões.....	85
5	Referências bibliográficas.....	86
	ANEXOS.....	88

RESUMO

SOUSA, Nelcimar Reis. **Variabilidade genética e estimativas de parâmetros genéticos em germoplasma de guaranazeiro** 2003. 99p. Tese (Doutorado em Agronomia/Genética e Melhoramento de Plantas). Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

O guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke) é um dos componentes da diversidade vegetal da região amazônica de reconhecida importância. As propriedades estimulantes e energéticas da cafeína natural motivaram a criação do mercado de produtos derivados de guaraná. Na região de Maués, no estado do Amazonas, a cultura se estabeleceu tradicionalmente pela produção artesanal de pó de guaraná, tornando-se referência regional em área plantada para atender a demanda de extratos para indústrias de refrigerantes de marcas locais e de consórcios internacionais. A pesquisa inicial com a espécie resultou em vários clones selecionados para produção de sementes secas e tolerância a doenças, porém a utilização mais intensiva do germoplasma nas próximas etapas do programa de melhoramento da espécie exige um maior conhecimento da variabilidade genética conservada. Neste trabalho, foram desenvolvidos dois estudos complementares visando obter informações genéticas e fenotípicas, que ampliem as perspectivas de aproveitamento do germoplasma pelo programa de melhoramento do guaraná. No primeiro, os objetivos foram avaliar a divergência genética de clones da coleção, por meio de medidas de similaridades obtidas com dados de RAPD e de clones utilizados no melhoramento, por meio da distância generalizada de Mahalanobis estimada com dados de caracteres relacionados à produção de frutos. No outro, o objetivo foi estimar parâmetros genéticos para sete caracteres de frutos em clones elite de guaraná. A variação existente no germoplasma foi eficientemente identificada por avaliações moleculares e fenotípicas, porém sem associação com os locais de coleta. A elevada correlação ($r = 0,854^{**}$) entre as similaridades de RAPD e as distâncias generalizadas de Mahalanobis, considerando somente as médias e os extremos das estimativas, permitiu a predição de que os clones CIR217, CMA227, CMU300 e CMU611 são mais apropriados para gerar combinações superiores em um programa de cruzamentos. A razoável herdabilidade do caráter número total de frutos normais por cacho (0,671) e sua correlação fenotípica positiva com peso médio de cacho (0,475**) apontam a importância desses dois caracteres como componentes de produção.

*Comitê de orientação: Prof. Dr. João Bosco dos Santos (Orientador)

ABSTRACT

SOUSA, Nelcimar Reis. **Genetic variability and estimation of genetic parameters in guarana tree germplasm** 2003. 99p. Thesis (Doctor in Agronomy/Genetics and Plant Breeding) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

Guarana tree (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke) is one component of the plant diversity found in the Amazon Region and also well known for its importance. The stimulant and energizing properties provided by its natural caffeine have encouraged a market composed of products from guarana. Around the region of Maués in the State of Amazonas, a local culture gave origin to a still rather primitive production of guarana powder, as a consequence the region became a reference as planted area to supply the demand for extracts used by local and international soft drink manufactures. The initial research of the specie resulted in several clones selected for both production of dried seeds and tolerance against diseases. However the more intensive use of germplasm during the next phases of the specie breeding program demands a better knowledge of the preserved genetic variability. In this research were developed two complementary studies aiming to obtain phenotypic and genetic information, to increase the use of guarana germplasm in the breeding program. The first study aimed to assess the genetic divergence of clones from the collection, through similarity measurements from RAPD markers and, divergence of breeding clones through Mahalanobis generalized distance estimated from characters related to fruit production. The second study aimed to estimate genetic parameters for seven fruit characters in elite clones of guarana. The existing variation in the germplasm has been effectively identified through molecular and phenotypic evaluations, but without any associations with the sampling location. The high correlation ($r=0.854^{**}$) between similarity measurements from RAPD and Mahalanobis distance, taking into account only the average and extreme estimates, allowed to predict that clones CIR217, CMA227, CMU300 and CMU611 are the most promising to be crossed in a breeding program. The reasonable heritability of total number of normal fruits per bunch (0.671) and its positive phenotypic correlation with the average bunch weight (0.475^{**}) indicate the importance of these two characters as production components.

*Guidance Committee: Prof. Dr. João Bosco dos Santos (Advisor)

1 INTRODUÇÃO

O guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke) é um dos componentes da diversidade vegetal da região amazônica de reconhecida importância social e cultural. A domesticação e distribuição da espécie contaram com a participação dos indígenas, que utilizavam as sementes para cura de doenças e como fonte de energia. As sementes de guaraná contêm elevados níveis de cafeína (2,7% a 5,8%) e pequenas quantidades de teobromina e teofilina (Meurer-Grimes et al., 1998). As propriedades estimulantes e energéticas da cafeína natural motivaram a criação do mercado de produtos derivados de guaraná e a exploração agrícola da espécie.

A espécie se estabeleceu como cultura após a aprovação da Lei n.º 5.823, de 14/11/72, denominada "Lei dos Sucos", que garante o consumo de uma quantidade mínima de 0,2g e máxima de 2g de sementes de guaraná, ou seu equivalente em extrato por litro dos refrigerantes denominados de guaraná (Brasil, 1972). Assim, o refrigerante guaraná é obrigado por lei a conter, no mínimo, 300 mg de semente de guaraná por 100 ml (Meurer-Grimes et al., 1998).

As informações quanto à origem e estrutura geográfica da diversidade do guaranazeiro são divergentes, entretanto prevalece a opinião de botânicos e de produtores tradicionais de que a espécie foi difundida até a região de Maués, no baixo Rio Negro. Nessa região, a cultura se estabeleceu tradicionalmente pela produção artesanal de pó, bastões e xaropes de guaraná; atualmente, tornou-se referência regional em área plantada para atender à demanda de extratos para as indústrias de refrigerantes de marcas locais e de consórcios internacionais.

A produção nacional de guaraná está estimada em 3.935 toneladas/ano, com área plantada de 11.703 ha (IBGE, 2001). Da demanda de amêndoas de

guaraná, cerca de 70% destinam-se às indústrias de refrigerantes e 30% são comercializados na forma de produtos artesanais (Cravo, 2001).

A cultura encontra-se em franca expansão no estado do Amazonas, sendo os principais produtores, os municípios de Iranduba, Parintins, Itacoatiara, Barreirinha, Boa Vista dos Ramos, Manacapuru, Maués, Urucará e Manaus. Também, cresceu nas regiões ecologicamente favoráveis à cultura, como: região cacauceira da Bahia, municípios de Valença, Taperoá, Nilo Peçanha, Camamu e Ituberá; Pará, município de Altamira; Rondônia; norte do Mato Grosso, município de Alta Floresta e Acre, municípios de Cruzeiro do Sul e Mâncio Lima, no Vale do Juruá (Nascimento Filho & Atroch, 2002).

Ao longo das duas últimas décadas, a Embrapa Amazônia Ocidental tem concentrado esforços para reunir a variabilidade genética em coleção de germoplasma em campo, visando à sua exploração imediata no programa de melhoramento. A pesquisa com o germoplasma coletado resultou em vários clones selecionados, porém, para aumentar as possibilidades de ganhos adicionais futuros também está previsto o emprego de seleção recorrente. A utilização mais intensiva do germoplasma nas próximas etapas do programa de melhoramento exige maior conhecimento da variabilidade genética conservada.

Considerando a inconsistência das informações sobre a distribuição geográfica do guaraná e o processo migratório da produção familiar que normalmente envolve a disseminação de espécies vegetais na região, presume-se a ocorrência de redundâncias na coleção. Além disso, a diversidade da coleção pode estar reduzida em função dos processos de amostragens e coletas dirigidas para genótipos e procedências com características de interesse imediato.

Por outro lado, a substituição dos antigos plantios, propagados por sementes, por clones superiores poderá levar a uma redução da variabilidade dos cultivos, em longo prazo. Assim, informações genéticas e fenotípicas sobre o germoplasma, conservado e utilizado, serão propícias para auxiliar na

implementação de novos procedimentos de seleção, identificar caracteres potenciais para avaliações na fase produtiva, constatar falhas ou duplicidades de germoplasma e fundamentar a decisão de enriquecimento da coleção.

Neste trabalho, os objetivos foram gerar informações sobre a divergência genética para os diversos clones da coleção e estimar parâmetros genéticos em caracteres relacionados com a produção de frutos visando ampliar as perspectivas de avanço genético no programa de melhoramento de guaraná.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke)

A espécie é um dos componentes da flora amazônica que teve sua utilização descoberta pelos povos indígenas, que utilizavam as sementes em rituais de cura de doenças e como fonte de energia. As propriedades estimulantes das sementes de guaraná expandiram suas possibilidades de mercado e incentivaram a transição da atividade de extrativismo para cultivos comerciais. Em razão disso, as pesquisas iniciais realizadas com o guaraná enfatizavam principalmente o caráter químico, bromatológico e farmacêutico de suas sementes e suas aplicações terapêuticas (Souza et al., 1971).

A exploração da espécie em plantios comerciais agrega valores para produtores, diretamente pela elaboração de produtos naturais, como o pó de guaraná usado no preparo de sucos ou indiretamente como fonte de matéria-prima para aproveitamento da cafeína natural na industrialização de produtos medicinais e refrigerantes. Para Benlekehal et al. (2001), a produção não consegue satisfazer à demanda crescente e para que o guaraná ocupe seu lugar no mercado internacional será prioritário o melhoramento da produção das plantas e da qualidade dos grãos, seguido da clonagem do material selecionado.

2.1.1 Origem e domesticação

A primeira informação que se tem sobre o guaraná, data de 1669, fornecida por Betendorf, superior jesuíta da Companhia de Jesus do Maranhão,

que o encontrou entre os índios Andirás, durante a viagem realizada pelo Rio Amazonas (Schmidt, 1930).

A delimitação do centro de origem de guaraná é controvertida, embora seja aceita a área compreendida pela bacia amazônica. O relato mais antigo descreve a disseminação da espécie do alto Orenoco e alto Rio Negro venezuelano, para o baixo Rio Negro, na região de Maués no Amazonas, delimitada pelos rios Madeira, Maués e Paraná dos Ramos (Ducke, 1937). A outra proposta de centro de origem é o município de Santarém, no estado do Pará, onde foi encontrado em estado provavelmente espontâneo em um local sem sinais de núcleos de antigas civilizações (Cavalcante (1967). Assim, o guaraná pode ter migrado para a região de Maués, no estado do Amazonas, descendo os Rios Negro ou Amazonas).

Atualmente, não há evidências de ocorrência de populações ou subpopulações naturais, prevalecendo a opinião entre botânicos de que a existência da espécie esteja limitada ao estado cultivado. Nesse sentido, Lleras (1992) comenta que as informações disponíveis sugerem que ainda hoje os índios maués introduzem materiais silvestres em seus cultivos, embora o guaraná seja conhecido somente em condições de cultivo.

Geograficamente, são descritas duas variedades de guaraná (Ducke, 1937; Pires, 1949). A *Paullinia cupana* var. *cupana*, conhecida como guaraná na Amazônia brasileira e cupana na Colômbia, está concentrada na região do Alto Orinoco até a cabeceira do Rio Negro. A outra variedade, *Paullinia cupana* var. *sorbilis*, é o guaraná cultivado e distribuído na Amazônia Central.

As variedades foram domesticadas pelos indígenas das tribos Maués e Andirás, no Baixo Amazonas (var. *sorbilis*) e os Bares, no Alto do Rio Negro (var. *cupana*); elas diferenciam-se principalmente no tamanho, forma e cor dos frutos. No alto do Rio Negro, a variedade *cupana* foi incorporada aos hábitos alimentares dos colonizadores e viajantes da região, porém sem ser difundida

fora de seu habitat natural. No Baixo Amazonas, a variedade *sorbilis* teve ampla aceitação e disseminação de suas sementes, desde a chegada dos primeiros colonizadores (Lheras, 1984), tornando-se a espécie nativa mais importante para a economia local.

A compreensão do nível de evolução das espécies requer informações sobre as forças evolucionárias operando nas populações e suas conseqüências na divergência genéticas intra e interpopulacional (Lynch et al., 1999). Allard (1999) destaca a importância das duas forças de seleção, artificial e natural, atuando de forma combinada ou em sentidos opostos para adaptação e produção das espécies cultivadas. Brush (1999) acrescenta que as espécies domesticadas têm sido modificadas em relação a seus parentes selvagens, dispersas e adaptadas a novos ambientes, onde são modeladas para atender às necessidades humanas.

Apesar de ser uma espécie pré-colombiana, a planta de guaraná parece ter sofrido mais interferência em caracteres relacionados com a produção de sementes do que aqueles relacionados com a adaptação ecogeográfica. Esses aspectos são importantes para entender as possíveis razões da inexistência de uma estruturação populacional geográfica e suas implicações na coleta, conservação e utilização de recursos genéticos no guaraná.

2.1.2 Botânica e sistema reprodutivo

O guaranazeiro, família Sapindaceae, é uma planta perene arbustiva, lenhosa e trepadeira, que pode atingir até 10 metros de altura quando tem como suporte outras árvores. A inflorescência, em forma de cacho, mede cerca de 25 cm de comprimento. O fruto é uma cápsula deiscente de cor vermelha a alaranjada, que quando maduro, abre parcialmente, deixando aparecer a semente castanho-escura envolta parcialmente por uma película branca, denominada de

arilo (Souza et al., 1996). As sementes normalmente têm forma arredondada, porém podem assumir formas diferentes conforme sejam oriundas de cápsulas obovadas ou oblatas com uma, duas, três ou mais sementes (Corrêa, 1989).

A espécie apresenta mecanismos morfológicos favoráveis à alogamia, embora as flores unissexuadas masculinas e femininas estejam presentes na mesma inflorescência. Os picos de floração, masculina e feminina, são dessincronizados (Gondim, 1978). As estruturas florais são classificadas como pseudo-hermafroditas por apresentarem flores masculinas com ovário rudimentar e flores femininas normais, mas com anteras indeiscentes (Carranza et al., 1981).

Pesquisas complementares de biologia floral comprovaram a alogamia do guaraná, porém sem descartar a ocorrência de autofecundações naturais com a ajuda dos insetos polinizadores. Escobar & Corrêa (1981) constataram a floração simultânea dos dois sexos no Campo Experimental de Maués e conseguiram êxito na produção de sementes por autofecundações controladas, sugerindo a ausência de auto-incompatibilidade no guaranazeiro. Dependendo do tamanho da população, a espécie pode ser considerada intermediária, com graus variados de polinização cruzada e geitonogamia (Escobar et al., 1985a).

2.1.3 Variabilidade fenotípica

A variabilidade do guaraná vem sendo estudada em germoplasma cultivado, tanto em áreas de produtores tradicionais como em áreas experimentais públicas e privadas, constituindo-se na principal fonte de conhecimento para a seleção de genótipos com características comerciais.

A primeira iniciativa de aproveitamento da variação para fins de seleção foi com base nos caracteres intensidade de floração, características do fruto, produção de sementes secas e resistência a pragas e doenças (Gonçalves, 1964).

Seleções fenotípicas de matrizes superiores, sob a coordenação da Embrapa Amazônia Ocidental, tiveram início em 1976, no Campo Experimental de Maués (Nascimento Filho et al., 1999).

Nas primeiras seleções, aplicadas por Corrêa & Escobar (1981), foram adotados os critérios de conformação de copa, tolerância a doenças, floração abundante e produção. Essas experiências foram decisivas para o direcionamento das pesquisas com guaraná, inclusive, para a definição dos principais caracteres a serem estudados nos processos de avaliação, caracterização e clonagem de genótipos superiores.

Assim, avanços nas pesquisas com a cultura ocorreram somente a partir de 1981, com a criação de um Programa Nacional de Pesquisa com Guaraná, pela Embrapa, por meio de sua Unidade de Execução de Pesquisas de Âmbito Estadual de Manaus (Uepae de Manaus). No mesmo ano, a seleção de plantas matrizes também foi iniciada no Campo Experimental de Manaus (Escobar & Corrêa, 1982).

A produção de amêndoa seca é a principal característica de interesse econômico do guaraná. Na primeira seleção, realizada em plantios experimentais a produção média por planta variou de 1,3kg a 4,4kg de amêndoa seca, evidenciando a ampla variabilidade entre plantas para produção (Corrêa & Escobar, 1981). Plantas matrizes com produção acima de 0,6kg/planta de amêndoa seca foram prospectadas em plantios com quatro anos de idade, sendo mais freqüentes produções próximas da média (1,83kg/planta) apesar da produção máxima de 5,9kg/planta de amêndoa seca (Escobar & Corrêa, 1982).

As amplitudes de variação de caracteres quantitativos relacionados com a adaptação da planta foram exploradas em vários experimentos de competição de plantas selecionadas e propagadas por enraizamento de estacas. A fase juvenil de 43 clones promissores foi avaliada em cinco ensaios de competição por Escobar et al. (1984a), encontrando variações para número de folhas (18 - 33),

número de ramos (7 - 9) e comprimento do ramo principal (50cm - 134cm). Os mesmos caracteres foram considerados por Nascimento Filho & Garcia (1991) para avaliar a variação da fase vegetativa de 342 genótipos em 27 experimentos de competição de clones.

Vários trabalhos também têm constatado a variação do teor de cafeína na semente seca, indicando a possibilidade de seleção para aumento dos níveis desse alcalóide. Diferenças significativas entre e dentro de progênies de meios-irmãos foram encontradas para teor de cafeína em sementes secas, com amplitude de variação de 0,6% e 6,2% (Escobar et al., 1985b). Comparativamente, teores médios inferiores (1,30% e 2,45%) foram encontrados por Corrêa (1989) em dois anos de determinações. Resultados intermediários foram apresentados por Garcia et al. (1991a) ao estudarem 67 genótipos em duas safras consecutivas, com pouca variação anual para os valores médios (4,26% - 4,30%), mínimos (3,31% - 3,43%) e máximos (4,92% - 4,89%) de teor de cafeína.

A variação de caracteres envolvendo a produção de frutos, ainda é restrita na caracterização de clones de guaraná, embora tenha sido sugerido por Corrêa (1989) ao propor uma lista mínima de descritores.

Atualmente, as avaliações prioritárias da coleção de germoplasma de guaraná e dos experimentos de competição de clones têm-se resumido a resistência a doenças e caracteres relacionados com as duas fases de desenvolvimento da planta. A fase vegetativa compreende caracteres associados ao vigor inicial da planta nos primeiros doze meses após o plantio e a fase produtiva abrange características relacionadas com floração, frutificação e produção (Garcia et al., 1991b; Nascimento Filho et al., 2001).

2.2 Conservação de germoplasma

A conservação pode ser *in situ*, quando se preserva espécies selvagens ou cultivares primitivas em suas áreas de ocorrência, ou *ex situ*, quando se mantêm espécies vegetais agrícolas em bancos de germoplasma.

Na conservação *ex-situ*, dois termos são considerados básicos para a melhor compreensão da organização dessa atividade: **germoplasma**, é o material que constitui a base física da herança e se transmite de uma geração a outra por meio de células reprodutivas (IBPGR, 1991) e **acesso** representa um elemento da coleção de germoplasma (Vilela-Morales et al., 1997). As coleções podem ser de sementes, em condições de cultivo, *in vitro* ou criopreservadas (Sousa & Souza, 2001).

A manutenção de plantas em condições de cultivo é a modalidade mais apropriada para a conservação de espécies com sementes recalcitrantes, como o guaraná. A necessidade de espaço e atenção constante faz da conservação de plantas em campo uma das mais caras, restritas e vulneráveis (Brown, 1992). Em função disso, a coleção clonal foi a estratégia adotada para conservar variabilidade genética resgatada, visando à sua utilização imediata em programas de melhoramento de guaranazeiro (Nascimento Filho et al., 2001).

A coleção de germoplasma de guaraná contém 270 clones e está sediada na Embrapa Amazônia Ocidental, município de Manaus, Amazonas. Inicialmente, o germoplasma predominante na coleção foi considerado como um material de base genética estreita por ter sido derivado de uma mistura de sementes coletadas em plantios tradicionais da região de Maués. A última coleta teve a intenção de ampliar a variação e, com isso, a coleção foi enriquecida com clones obtidos diretamente de estacas coletadas em plantios nos municípios de Iranduba, Manaus e Maués (Nascimento Filho et al., 2001).

Independente do tipo de coleção, uma das preocupações é a duplicação de germoplasma. Van Hintum & Knüptter (1994) distinguem dois tipos de duplicação em coleções: a duplicação idêntica e a duplicação parcial. A primeira refere-se a acessos geneticamente idênticos comumente derivados da mesma população parental, como misturas de linhas com diferentes frequências genotípicas ou populações de acasalamento ao acaso com os mesmos alelos em diferentes frequências. Na duplicação parcial, apenas parte dos alelos é duplicada.

Informações incompletas sobre a origem do material são as principais geradoras de duplicações que, além de aumentar o tamanho da coleção, também podem trazer problemas ao serem utilizadas em estágios avançados de programas de melhoramento. O conhecimento da variabilidade genética conservada fornece indícios para a identificação de duplicatas.

2.3 Avaliação de germoplasma

A variabilidade genética de características botânicas e agrônômicas antes de ser utilizada em programas de melhoramento deve passar por uma avaliação criteriosa, para que se tenham informações sobre a presença de alelos para fenótipos específicos e suas relações com a origem do germoplasma. Em espécies cultivadas, o padrão de distribuição geográfica reflete o efeito da seleção praticada pelo homem em um particular ambiente, assim como o histórico do desenvolvimento da cultura em diferentes locais (Hodgkin, 1997).

Estudos de diversidade têm sido úteis na avaliação de germoplasma. Os dados podem auxiliar no direcionamento de enriquecimento da base genética durante o andamento de um programa de melhoramento, bem como na avaliação da redundância e deficiências das coleções de germoplasma, gerando dados

sobre a eficiência do processo de coleta, manutenção, manejo e enriquecimento de banco de germoplasma (Phillips et al., 1993; Newbury & Ford-Lloyd, 1993). Mohammadi & Prasanna (2003) acrescentam que a análise da diversidade genética em coleções de germoplasma pode facilitar a classificação de acessos e identificação de sub-amostras *core* para propósitos específicos de melhoramento.

Ford-Lloyd (2001) alerta que o conceito de diversidade pode parecer simples, mas pode levar ao uso inapropriado de algumas medidas. Quando a riqueza alélica é empregada para medir diversidade, germoplasma com maior número de alelos diferentes será mais diverso. Ao contrário, uma amostra de germoplasma, na qual os alelos encontram-se em frequências aproximadamente iguais será mais diversa que aquela com maior número de alelos em frequência muito desigual.

Outro aspecto importante é a escolha do marcador genético para a obtenção das informações necessárias para a análise da variação. Em espécies perenes, os marcadores moleculares são atrativos por permitirem uma avaliação prévia do material sem a necessidade de esperar vários anos pela fase produtiva.

2.3.1 Avaliação molecular

A variação molecular auxilia no agrupamento da diversidade com base numa medida de similaridade; por isso, vem sendo amplamente empregada como metodologia complementar às abordagens tradicionais de conservação e avaliação de germoplasma. McKay & Latta (2002) alertam que marcadores moleculares e caracteres fenotípicos comportam-se de maneira diferente na divergência adaptativa das populações e por isso, não se deve extrapolar uma variação para outra.

2.3.1.1 Marcadores moleculares

Em geral, os marcadores moleculares permitem uma amostragem extensiva do genoma de interesse, sendo cada marcador considerado como um caráter distinto. Os marcadores aleatórios baseados em PCR têm sido aceitos sem restrições para estudos típicos de genética de populações, por facilitar a análise de número elevado de indivíduos para um grande número de marcadores.

Dentre as técnicas de PCR, o marcador RAPD (*random amplified polymorphic DNA*) é considerado o mais simples em termos operacionais. Apresenta a vantagem da utilização de iniciadores de seqüência arbitrária para dirigir a reação de amplificação, eliminando assim a necessidade do conhecimento prévio de seqüência (Williams et al., 1990). As principais desvantagens dos marcadores RAPD são a baixa reprodutibilidade e o baixo conteúdo de informação genética por loco, uma vez que apenas um alelo é detectado, enquanto que todos os outros são interpretados como um alelo nulo (Ferreira & Grattapaglia, 1998). As desvantagens podem ser minimizadas pela padronização de procedimentos e utilização de maior número de *primers*.

Várias coleções de espécies de importância comercial foram estudadas com RAPD na análise de estratégias de amostragem, identificação de acessos duplicatas e validação de coleções nucleares selecionadas com base em dados fenotípicos. Em espécies de propagação vegetativa ressaltam-se os estudos de diversidade genética para identificação de germoplasma de cacau (Wilde et al., 1992), diversidade genética em clones de pêssego (Cassas et al., 1999), avaliação de acessos americanos de mandioca (Colombo et al., 2000), análise da variabilidade genética de acerola (Salla et al., 2002) e caracterização do germoplasma de tangerina do sudeste brasileiro (Koelher-Santos et al., 2003). Em todos, os dados foram considerados informativos e com indicações importantes para a coleta de germoplasma e melhoramento genético das espécies.

2.3.1.2 Análise da variação molecular

A variação molecular pode ser medida de várias maneiras; segundo Krzanowski (1988), é expressivo o número de coeficientes que já foram propostos. A similaridade é uma medida estabelecida entre um genótipo i e um genótipo j (s_{ij}) e geralmente apresenta valores entre 0 e 1. Ao contrário, a dissimilaridade mede-se por $d_{ij} = 1 - s_{ij}$, é simétrica e não negativa.

As medidas mais simples são aquelas relacionadas a variáveis dicotômicas, geradas por marcadores moleculares dominantes, RAPD e AFLP. As quatro possíveis observações de comparação entre dois genótipos são classificadas com base na presença (1) ou ausência (0) da banda no gel de eletroforese e correspondem a: $a=11$; $b=10$; $c=01$ e $d=00$. Os coeficientes de similaridade que desprezam a dupla ausência de bandas são preferidos em estudos com marcadores dominantes, pois não se sabe a natureza molecular da ausência da banda. Especialmente, quando os genótipos constituem uma população de indivíduos com parentescos desconhecidos (Dias, 1998).

Sokal & Sneath (1963) citam vários coeficientes de similaridades. Os mais utilizados em estudos com RAPD são os de Jaccard e Sorensen-Dice ou Nei & Li. Duarte et al., (1999) verificaram a correlação de 100% entre os coeficientes de Jaccard e Nei & Li na obtenção das similaridades genéticas e na formação do dendrograma entre 27 cultivares de *Phaseolus vulgaris*. Porém, o coeficiente de Nei & Li foi mais eficiente na dispersão dos genótipos em um plano bidimensional, por isso, foi considerado mais apropriado para a análise de marcadores RAPD.

2.3.1.3 Análise de agrupamento

Os métodos de agrupamentos podem ser categorizados em dois grupos: hierárquicos e não hierárquicos (Mohammadi & Prasanna, 2003). A diferença

básica entre os dois métodos é que o primeiro envolve a construção de dendrograma e o outro não.

Os métodos hierárquicos são subdivididos em divisivos e aglomerativos (Johnson & Wichern, 1992). Nos métodos aglomerativos, os objetos mais similares são agrupados primeiro e destes, novos grupos são formados de acordo com suas similaridades. Nos métodos divisivos, um grupo inicial é dividido em dois subgrupos de tal modo que os objetos de um subgrupo fiquem o mais distantes possíveis dos objetos do outro.

Os métodos mais comuns em análise de diversidade genética em espécies vegetais são os hierárquicos aglomerativos, que consistem no agrupamento de genótipos por um processo que se repete em vários níveis até que seja estabelecido o dendrograma. Os mais conhecidos são os de ligação média, de vizinho mais próximo e o da variância mínima de Ward. Porém, o mais utilizado para análises de similaridades genéticas é o UPGMA (*Unweighted Paired Group Method Using Arithmetic Averages*). Em espécies perenes potenciais assim como o guaranazeiro, a metodologia tem sido utilizada para categorizar a variabilidade ainda pouco conhecida de pupunha (Sousa et al., 2001), noz-pecan (Conner & Wood, 2001), *blueberry* (Burgher et al., 2002), ipeca (Lima, 2002) e jaborandi (Moura, 2003).

2.3.2 Avaliação fenotípica

O conhecimento da variação fenotípica constitui a principal base para seleção de genótipos com fenótipos de interesse agrônomico. A amplitude da variabilidade genética em uma população segregante é função da divergência entre os genitores envolvidos no cruzamento (Falconer & Mackay, 1996). No caso de germoplasma, a divergência pode refletir os efeitos da seleção em processos evolutivos e de cultivos. Para Allard (1999), a diferenciação entre

grupos de indivíduos é resultado de um processo lento de modificações das frequências alélicas de diferentes locos.

O modo mais prático para estudar a variação fenotípica é por meio de estimativas de divergências genéticas obtidas da análise multivariada de um conjunto de caracteres e da separação de indivíduos em grupos com base numa medida de distância genética. Esse método vem sendo aplicado para avaliar a variabilidade em germoplasma de várias espécies perenes (Carpentieri-Pípolo et al., 2000; Nascimento Filho et al., 2001; Araújo et al., 2002; Martel et al., 2003).

2.3.2.1 Análise multivariada

A análise multivariada é uma metodologia que permite a análise simultânea de um conjunto de variáveis (Johnson & Wichern, 1992). Diversas técnicas estão disponíveis, desde a simples análise de variância multivariada (MANOVA) a técnicas mais sofisticadas. A análise de variância multivariada permite uma avaliação preliminar da existência de variabilidade genética, por meio da comparação dos vetores de média de várias populações.

A escolha da técnica depende do tipo de dado, do problema e dos objetivos do estudo. As análises por variáveis canônicas, componentes principais e os métodos hierárquicos aglomerativos em combinação com as distâncias euclidianas ou distâncias generalizadas de Mahalanobis, são os métodos mais utilizados para análise da divergência genética (Cruz & Carneiro, 2003).

A análise por componentes principais consiste em transformar um conjunto original de variáveis em outro conjunto de dimensão equivalente, mas que retenha o máximo da informação em termos de variação total (Cruz & Carneiro, 2003). Cada componente principal é uma combinação linear das variáveis originais. A vantagem desse método é que pode ser usado em dados provenientes de experimentos sem repetições. O método foi adotado na estimativa da divergência genética de várias espécies perenes nativas da

Amazônia, como seringueira (Paiva, 1994), guaraná (Nascimento Filho et al., 2001) cupuaçu (Araújo et al., 2002; Alves et al., 2003) e pupunha (Martel et al., 2003).

A análise por variáveis canônicas é um processo semelhante, em que se obtêm as variáveis mais relevantes para estudos de divergência genética com base na distribuição dos genótipos em gráficos de dispersão bi ou tridimensionais. Entretanto, esta metodologia leva em conta a matriz de covariância residual e a covariância fenotípica entre os caracteres avaliados e somente são utilizadas para aqueles dados obtidos de experimentos com repetições. As variáveis canônicas foram utilizadas em diferentes estudos, como, identificação de duplicidades em feijão (Fonseca & Silva, 1999), seleção de genótipos parentais em acerola (Carpentieri-Pípolo et al., 2000) e na caracterização de cultivares de coco (Vargas & Blanco, 2000).

2.3.2.2 Análise da divergência genética

Nos métodos hierárquicos aglomerativos vêm se utilizando freqüentemente as distâncias euclidianas e as distâncias generalizadas de Mahalanobis (Ribeiro et al., 1999; Nascimento Filho et al., 2001; Araújo et al., 2002). Alguns autores utilizam mais de uma medida de distância no mesmo material. Dias (1994) verificou a ausência de correlação entre as distâncias obtidas pela distância de Mahalanobis e pela distância euclidiana média ao estudar a divergência entre clones de cacau. Fonseca (1999), ao estudar três variedades clonais de café conillon pelas duas metodologias, concluiu que não há concordância completa na discriminação dos pares mais similares.

Cruz & Regazzi (1994) recomendam o emprego da distância de Mahalanobis para dados provenientes de experimentos com casualização e repetições, o que permite considerar variação de cada unidade amostral e o grau

de associação entre as variáveis. As distâncias euclidianas devem ser empregadas somente para dados que não dispõem dessas informações.

2.3.2.3 Análise de agrupamento

As análises de agrupamento têm a função de alocar os genótipos em grupos, de tal forma que exista homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre grupos (Cruz & Carneiro, 2003).

O método de otimização mais utilizado é o de Tocher, que considera que a média das distâncias dentro de cada grupo deve ser menor que as distâncias médias entre grupos. O primeiro grupo é formado pelo par de menor distância e a decisão de incluir um novo indivíduo no grupo dependerá do acréscimo no valor médio da distância dentro do grupo e o nível máximo estabelecido pela maior distância dentre o conjunto de menores distâncias. O método foi empregado em estudos de divergência em algumas espécies agroindustriais, como café conilon (Fonseca, 1999) e guaraná (Nascimento Filho et al., 2001).

O método hierárquico também tem sido utilizado, principalmente em estudos complementares envolvendo dados de marcadores moleculares e dados fenotípicos (Roselli et al., 2002; Moura, 2003; Koehler-Santos et al., 2003).

2.3.2.4 Parâmetros genéticos

As estimativas de parâmetros genéticos para caracteres agronômicos são de particular interesse por proporcionar bases para o planejamento eficiente de programas de melhoramento, além de fornecer indicativos sobre a variabilidade existente em determinada população.

Resende (2001) ressalta que, além de suas importâncias na inferência sobre o controle genético dos diferentes caracteres e comparação de métodos de seleção, as estimativas de parâmetros genéticos são essenciais nos procedimentos de predição de valores genéticos e, portanto, na seleção

propriamente dita. Cruz & Carneiro (2003) destacam, dentre os parâmetros de maior importância, as variâncias genéticas aditivas e não-aditivas, as herdabilidades e as correlações.

- **Herdabilidade**

A herdabilidade é definida como a porção da variabilidade total resultante de causas genéticas, sendo expressa pela razão entre a variância genética e a variância total (Allard, 1999). Falconer & Mackay (1996) alertam que é importante entender que a herdabilidade não é uma propriedade somente do caráter, mas também da população, das circunstâncias ambientais às quais os indivíduos estão submetidos.

Na realidade, as estimativas de herdabilidade quantificam as possibilidades de progresso na seleção de determinado caráter, por isso é considerada uma medida preditiva de grande aplicabilidade nos programas de melhoramento de qualquer espécie.

Nos estudos preliminares do programa de seleção de guaraná foram obtidas estimativas de herdabilidade para alguns caracteres. Aos 12 meses, os coeficientes de herdabilidade, no sentido amplo, foram considerados altos para caracteres juvenis como número de folhas (0,80), comprimento do maior ramo (0,80) e número de ramos (0,76) (Escobar, 1986).

Para caracteres diretamente relacionados com a produção, Valois & Corrêa (1976) consideraram os coeficientes com valores baixos para tamanho de inflorescência (0,40), número de botões (0,35), número de frutos (0,28) e número de sementes (0,49). Em contrapartida, Corrêa (1989) encontrou valores mais altos para coeficientes de determinação genotípica em clones para peso de cacho (0,97), comprimento do cacho (0,86), número de frutos por cacho (0,85) e teor de cafeína (0,61).

- **Correlações entre caracteres**

As correlações fornecem informações valiosas sobre a associação dos caracteres, principalmente para aquelas espécies com pouco conhecimento genético. A associação entre dois caracteres, que pode ser diretamente observada, é a correlação de valores fenotípicos ou correlação fenotípica, que é determinada pela medição de dois caracteres em indivíduos de uma população (Falconer & Mackay, 1996).

A correlação fenotípica pode ter causas genéticas e ambientais, mas somente as de natureza herdável são genéticas (Cruz & Regazzi, 1994). A principal causa genética de correlação é a pleiotropia, embora ligações genéticas possam causar correlações transitórias em populações derivadas de linhagens divergentes (Falconer & Mackay, 1996). O parâmetro correlação genética denota o grau de associação genética entre caracteres, ou seja, quantifica as influências que determinados caracteres exercem sobre outros caracteres (Resende, 2002), principalmente em processos de seleção.

As associações de natureza genética são de maior interesse para os programas de melhoramento (Vencovsky & Barriga, 1992). Portanto, o conhecimento prévio dessas relações entre caracteres pode tornar o aproveitamento da variabilidade genética mais eficiente, uma vez que caracteres de difícil medição podem ser selecionados indiretamente quando estão positivamente correlacionados com outros mais acessíveis. Por outro lado, a seleção pode ser dificultada quando caracteres de interesse estão associados com outros menos importantes.

Estudos de correlações, método alternativo para identificação de associações fenotípicas entre caracteres, foram bastante explorados durante o processo inicial de desenvolvimento tecnológico da cultura do guaranazeiro por diversos autores.

O comportamento de caracteres relacionados com a parte aérea do guaraná foi estudado por correlações simples em alguns trabalhos. Em progênies de polinização aberta, o número de folhas e o número de ramos apresentaram função linear e correlação significativa no primeiro ano de crescimento (Escobar et al., 1984b). Coeficientes de correlações simples significativos também evidenciaram a relação do comprimento do maior ramo aos seis meses de idade com número de ramos e número de folhas em vários experimentos de competição de clones (Escobar, 1986). Em relação às dimensões das folhas, foram encontradas associações positivas entre rendimento, comprimento e largura do folíolo-3 (Corrêa, 1989). Além disso, o autor salienta a importância dessas medidas para identificação de tipos botânicos em populações de guaraná assim como na determinação de outros caracteres de interesse, tais como área foliar e índice alométrico.

A associação entre componentes de floração e frutificação foi avaliada em poucos trabalhos. Valois & Corrêa (1976), por meio do coeficiente de determinação, detectaram maior percentual de correlação entre número de frutos e número de sementes secas. Coeficientes de correlação significativos foram encontrados para tamanho da inflorescência com número de frutos (Valois et al., 1979) e número de frutos por cacho com peso de cacho (Corrêa, 1989).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLARD, R. W. **Principles of plant breeding**. 2.ed. NewYork: J. Wiley, 1999. 254p.

ALVES, R.M. et al. Seleção de descritores botânico-agronômicos para caracterização de germoplasma de cupuaçuzeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.7, p.807-818, 2003.

ARAÚJO, D. G. de; CARVALHO, S. P.; ALVES, R. M. Divergência genética entre clones de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* willd ex spreng schum). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.1, p.13-21, 2002.

BENLEKEHAL, H. et al. Un produit amazonien particulièrement riche en caféine: la graine de guaraná [*Paullinia cupana* H.B.K.var. *sorbilis* (Mart.) Ducke]. **Fruits**, v.56, n.6, p.423-435, 2001.

BRASIL. **Leis n.5.823**, 14 nov.1972. Dispõe sobre a padronização, classificação, inspeção e registro de bebidas, e dá outras providências. Brasília: MIC, 1972. 16p.

BROWN, A. H. D. Human impact on plant gene pools and sampling for their conservation. **Oikos**, Copenhagen, v.63, n.1, p.109-118, Feb. 1992.

BRUSH, S. B. The issues of in situ conservation of crop genetic resources. In: _____. **Genes in the field. on-farm conservation of crop diversity**. Rome: International, Plant Genetic Resources Institute; Ottawa: International Development Research Centre; Boca Raton: Lewis, 1999. 288p.

BURGHHER, K. L.; JAMIESON, A. R.; LU, X. Genetic relationships among lowbush blueberry genotypes as determined by randomly amplified polymorphic DNA analysis. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.127, n.1, p.98-103, 2002.

CARPENTIERI-PÍPOLO, V. et al. Seleção de genótipos parentais de acerola com base na divergência genética multivariada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v 35, n.8, p.1613-1619, 2000.

CARRANZA, R.E.; CORRÊA, M.P.F.; BATISTA, M.F. **Técnicas para polinizações em guaraná (*Paullinia cupana* HBK var. *sorbilis*)**. Manaus: Embrapa-UEPAE, 1981. 3p. (Pesquisa em Andamento, 25).

CASSAS, A. M. et al. Genetic diversity of *Prunus* rootstocks analyzed by RAPD markers. **Euphytica**, v.110, p.139-149, 1999.

CAVALCANTE, P.B. 1967. **O guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) em estado provavelmente espontânea, no planalto de Santarém, Pará. Belém.** Belém: Museu Goeldi, 1967. 5p. (Boletim do Museu Goeldi, 26).

COLOMBO, C.; SECOND, G.; CHARRIER, A. Diversity within American cassava germ plasm based on RAPD markets. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.23, n.1, p.189-199, 2000.

CONNER, P. J.; WOOD, B. W. Identification of pecan cultivars and their genetic relatedness as determined by randomly amplified polymorphic DNA analysis. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.126, n. 4, p.474-480, 2001

CORRÊA, M. P. F. **Caracteres quantitativos e qualitativos para descrição morfológica do guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke).** 1989. 186p. Tese (Doutorado em Botânica)-Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas.

CORRÊA, M. P. F.; ESCOBAR, J. R. **Seleção fenotípica do guaranazeiro.** Manaus: Embrapa, 1981. 3p. (Pesquisa em Andamento, 29).

CRAVO, M. da S. Programa de pesquisa com a cultura do guaraná da Empresa Amazônica Ocidental. In: REUNIÃO TÉCNICA DA CULTURA DO GUARANÁ, 1., 2001, Manaus, AM. **Resumos ...** Manaus, AM: Embrapa Amazônia Ocidental, 2001. p. 11-14. (Documentos, 16).

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** Viçosa: UFV, 2003. v.2, 585p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. R. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** Viçosa: UFV, 1994. 390p.

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

DIAS, L. A. S. Análises multidimensionais. In: ALFENAS, A.C. (Ed.). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos**. Viçosa: UFV, 1998. p.405-475.

DUARTE J. M.; SANTOS, J. B. dos; MELO, L. C. Comparison of similarity coefficients based on RAPD markers in the common bean. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.22, n.3, p.427-432, Sept. 1999.

DUCKE, A. Diversidade dos guaranás. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, p.155-156, 1937.

ESCOBAR, J. R. **Herdabilidade de alguns caracteres da fase juvenil de clones de guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*)**. Manaus: Embrapa-UEPAE, 1986. 23p. (Boletim de Pesquisa, 6).

ESCOBAR, J.R.; CORRÊA, M.P.F. **Ocorrência de autofecundação natural no guaranazeiro**. Manaus: Embrapa-UEPAE, 1981. 2p. (Pesquisa em Andamento, 28) .

ESCOBAR, J. R.; CORRÊA, M. P. F. **Competição de clones de guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) utilizando o delineamento de anéis hexagonais (Honey Comb Design)**. Manaus: Embrapa-UEPAE, 1982. 7p. (Pesquisa em Andamento, 40).

ESCOBAR, J. R.; CORRÊA, M. P. F.; MOTTA, A. S. Seleção de clones de guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke) baseada em vigor e adaptação ao campo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DO TRÓPICO ÚMIDO, 1984., Belém. **Anais...** Belém: Centro de Pesquisas Agropecuárias do Trópico Úmido, 1984a. v.4, p.294-303.

ESCOBAR, J. R.; CORRÊA, M. P. F.; BARRETO, J. F. **Estimativa do número de folhas e ramos, altura da planta, tamanho de semente seca e produção de guaraná**. Manaus: Embrapa-UEPAE, 1984b. 30p. (Boletim de Pesquisa, 2).

ESCOBAR, J. R.; COSTA, P. R. C.; CORRÊA, M. P. F. Estimativa de variação do número de flores femininas efetivas do guaranazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.20, n.12, p. 1365-1371, 1985a.

ESCOBAR, J.R.; COSTA, P. R. C da; CORRÊA, M. P. F. **Variação do teor de cafeína na semente de guaraná, em progênies de polinização aberta**. Manaus: Embrapa-UEPAE, 1985b. 17p. (Boletim de Pesquisa, 5).

- FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. 4.ed. Malaysia: Longman, 1996. 464p.
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3.ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220p.
- FONSECA, A. F. A. da. **Análises biométricas em café conillon (*Coffea canephora* Pierre)**. 1999. 121p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- FONSECA, J. R.; SILVA, H. T. da. Identificação de duplicidades de acessos de feijão por meio de técnicas multivariadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.3, p.409-414, 1999.
- FORD-LLOYD, B. V. Genotyping in plant genetic resources. In: HERRY, R. J. (Ed.). **Plant genotyping: the DNA fingerprinting of plants**. CAB International, 2001. p.59-81.
- GARCIA, T.B. et al. **Teor de cafeína em sementes secas de guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*)**. Manaus: Embrapa-CPAA, 1991a. 3p. (Pesquisa em Andamento, 9).
- GARCIA, T.B. et al. **Caracterização e avaliação de guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*)**. Manaus: Embrapa-CPAA, 1991b. 11p. (Pesquisa em Andamento, 10).
- GONÇALVES, J. R. **Relatório sobre o trabalho de seleção de guaraná em Água Fria, Município de Manaus**. Manaus, AM: [s.n.], 1964. 6p.
- GONDIM, C.J.E. **Alguns aspectos da biologia do guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke)**. 1978. 82p. Dissertação (Mestrado em Botânica)-Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, AM.
- HODGKIN, T. Some current issues in the conservation of plant genetic resources. In: MOLECULAR GENETIC TECHNIQUES FOR PLANT GENETIC RESOURCES, 1995, Rome, IT. **Report...** Rome, Italy: International Plant Genetic Resources Institute, 1997. p.3-10. (Report of an IPGRI Workshop).

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção agrícola municipal**. 2001. Disponível em: <www.ibge.com.br>. Acesso em: 25 nov. 2003).

INTERNATIONAL BOARD FOR PLANT GENETIC RESOURCES. **Elseviers dictionary of plant genetic resources**. Rome, 1991. 187p.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. **Applied multivariate statistical analysis**. 3.ed. Englewood Cliffs: Prentice-Hall International, 1992. 642p.

KOEHLER-SANTOS, P.; DORNELLES, A., L. C.; FREITAS, L. B. de F. Characterization of mandarin citrus germplasm from Southern Brazil by morphological and molecular analyses. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.7, p.797-806, 2003.

KRZANOWSKI, W. J. **Principles of multivariate analysis: a user's perspective**. Oxford: Oxford Science, 1988. 563p.

LIMA, P. S. G. **Divergência genética e efeito do nitrogênio total no crescimento *in vitro* de ipeca [*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes]** 2002. 83p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

LLERAS, E. Considerações sobre a distribuição geográfica e taxonomia do guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) e taxa afins na Amazônia. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DO GUARANÁ, 1., 1984, Manaus. **Anais...** Manaus: EMBRAPA-UEPAE, 1984. p.281-292.

LLERAS, E. Espécies de *Paullinia* com potencial econômico. In: _____. **Cultivos marginados outra perspectiva de 1492**. Roma: FAO, 1992. 339p. (Produção e Proteção Vegetal, 26).

LYNCH, M. et al. The quantitative and molecular genetic architecture of a subdivided species. **Evolution**, v.53, p.100-110, 1999.

MARTEL, J. H. I. et al. Estatística multivariada na discriminação de raças amazônicas de pupunheiras (*Bactris gasipaes* Kunth) em Manaus (Brasil). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.1, p.115-118, 2003.

McKAY J. K.; LATTA, R. G. Adaptive population divergence: markers, QTL and traits. **Trends in Ecology and Evolution**, London, v.17, n.6, p.285-291, 2002.

MEURER-GRIMES, B.; BERKOV, A.; BECK, H. Theobromine, theophylline, and caffeine in 42 samples and products of guaraná (*Paullinia cupana*, Sapindaceae). **Economic Botany**, Brasília, v.52, n.3, p.293-301, 1998.

MOHAMMADI, S. A.; PRASANNA, B. M. Analysis of genetic diversity in crop plants – salient statistical tools and considerations. **Crop Science**, v.43, p. 1235-1248, 2003.

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

NASCIMENTO FILHO, F.J. do; ATROCH, A.L. Guaranazeiro. In: BRUCKNER, C.H. (Ed.). **Melhoramento de fruteiras tropicais**. Viçosa, MG: UFV, 2002. p.291-307.

NASCIMENTO FILHO, F.J.; GARCIA, T.B. **Competição e avaliação de clones de guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*)**. Manaus: EMBRAPA-CPAA, 1991. 7p. (Pesquisa em Andamento, 8).

NASCIMENTO FILHO, F. J. do. et al. **Clones de guaranazeiro para o Estado do Amazonas**. Manaus: EMBRAPA Amazônia Ocidental, 1999. 3p. (Comunicado Técnico, 1).

NASCIMENTO FILHO, F. J. do. et al. Divergência genética entre clones de guaranazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.3, p.501-506, 2001.

NEWBURY, H.J.; FORD-LLOYD, B.V. The use of RAPD for assessing variation in plants. **Plant Growth Regul**, v.12, p.43-51, 1993.

PAIVA, J. R. de. Divergência genética entre clones primários de seringueiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.29, n.4, p.607-615, 1994.

PHILLIPS, T.D.; MURPHY, J.P.; GOODMAN, M.M. Isozyme variation in germplasm accessions of the wild oat *Avena Sterilis* L. **Theoretical Applied in Genetics**, v.86, p.54-64, 1993.

PIRES, J.M. **O guaraná**. Belém: Instituto Agrônomo do Norte, 1949. 16p. (Relatório da Seção de Botânica).

RESENDE, M. D. V. de. Melhoramento de espécies perenes. In: NASS, L. L. et al. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento - plantas**. Rondonópolis: Fundação-MT, 2001. p.357-421.

RESENDE, M. D. V. de. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2002. 975p.

RIBEIRO, F. E.; SOARES, A. R.; RAMALHO, M. A. P. Divergência genética entre populações de coqueiro-gigante-do-Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.9, p.1615-1622, set. 1999.

ROSELLI, G. et al. Variability in five Tuscan olive cultivars (*Olea europea* L.). **Journal of Genetics & Breeding**, v.56, p.51-60, 2002.

SALLA, M. F. S. et al. Uso de marcadores moleculares na análise da variabilidade genética em acerola (*Malpighia emarginata* D. C.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.1, p.15-22, 2002.

SCHMIDT, F. O guaraná: sua cultura e indústria. **Campo**, v.1, n.7, p.74-79, 1930.

SOKAL, R. R.; SNEATH, P. H. A. **Principles of numeric taxonomy**. San Francico: W. H. Freeman, 1963. 359p.

SOUSA, N. R.; SOUZA, A. das G. C. Conservação *ex-situ* e utilização de espécies nativas. In: _____. **Recursos fitogenéticos na Amazônia Ocidental**. Manaus: EMBRAPA Amazônia Ocidental, 2001. 205p.

SOUSA, N. R. et al. Discriminação de raças primitivas de pupunha (*Bactris gasipaes*) na Amazônia brasileira por meio de marcadores moleculares (RAPD). **Acta Amazônica**, v.31, n.4, p.539-545, 2001.

SOUZA, A.F. et al. **Aspectos prioritários de um programa de pesquisas e experimentação com a cultura do guaraná no Estado do Amazonas**. Manaus: IPEAOc, 1971. p.1-10. (Informativo, 1).

SOUZA, A. G. C. et al. **Fruteiras da Amazônia**. Brasília: EMBRAPA-SPI/Manaus: EMBRAPA-CPAA, 1996. 204p. (Biblioteca Botânica Brasileira, 1).

VALOIS, A. C. C.; CORRÊA, M. P. F. **Estudos de caracteres correlacionados com a produção de amêndoa seca no guaranzeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*)**. Manaus: EMBRAPA-UEPAE, 1976. 15p. (Circular Técnica, 8).

VALOIS, A.C.C.; CORRÊA, M.P.F.; VASCONCELOS, M.E.C. Estudos de caracteres correlacionados com a produção de amêndoa seca no guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 14, n.2, p.175-179, 1979.

VAN HINTUM, T.J.L.; KNÜPFER, H. Duplication within and between germplasm collections. I identification of duplication on the basis of passport data. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.42, p.127-133, 1994.

VARGAS, A.; BLANCO, F.A. Fruit characterization of *Cocos nucifera* L. (ARECACEAE) cultivars from the Pacific coast of Costa Rica and the Philippines. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.47, p.483-487, 2000.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496 p.

VILELA MORALES, E. A.; VALOIS, A. C. C.; NASS, L. L. **Recursos genéticos vegetales**. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN/EMBRAPA-SPI, 1997. 78p.

WILDE, J.; WAUGH, R.; POWELL, W. Genetic fingerprint of *Theobroma* clones using randomly amplified polymorphic DNA markers. **Theoretical Applied in Genetics**, v.83, p.835-838, 1992.

WILLIAMS, J.G.K. et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.18, n.22, p.6531-6535, 1990.

CAPÍTULO I

DIVERGÊNCIA GENÉTICA EM GERMOPLASMA DE GUARANAZEIRO

RESUMO

SOUSA, Nelcimar Reis. Divergência genética em germoplasma de guaranazeiro. In: _____. **Variabilidade genética e estimativas de parâmetros genéticos em germoplasma de guaranazeiro**. 2003. Cap.1. p.31-66. Tese (Doutorado em Agronomia/Genética e Melhoramentos de Plantas)-Universidade Federal de Lavras, Lavras *

O guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke) é uma espécie conhecida comercialmente pelas propriedades medicinais e estimulantes de suas sementes. Nativa da Amazônia, a espécie apresenta um histórico de domesticação favorável à pressuposição de que todo guaraná cultivado seja procedente de sementes disseminadas pelos indígenas até ao baixo Rio Negro, região com maior tradição no cultivo da espécie, Maués, estado do Amazonas. Os objetivos foram avaliar a divergência genética de clones da coleção, por meio de medidas de similaridades obtidas com dados de RAPD e de clones utilizados no melhoramento, por meio da distância genética de Mahalanobis, estimada com dados de caracteres relacionados com a produção de frutos. Na avaliação molecular foram avaliados 75 clones de guaraná da coleção de germoplasma da Embrapa Amazônia Ocidental e, destes, 27 que representam a base do melhoramento foram também submetidos à avaliação fenotípica. As medidas de similaridades indicaram a existência de ampla variação genética, porém a estruturação da variabilidade foi indiferente ao local de coleta. Os clones CMU948 e CMU949 foram os mais similares (0,82), enquanto CMA227 e CMA463 foram os menos similares (0,49). A análise da variação fenotípica, de modo geral, constatou a existência de variabilidade para caracteres da fase produtiva, que pode ser empregada tanto na seleção de genitores para programas de cruzamentos como na obtenção de variedades clonais. Os clones menos e mais divergentes foram CMU624 e CMU871 ($D^2=19,58$) e CIR217 e CMU611 ($D^2=1219,55$), respectivamente. Os caracteres peso médio de fruto, diâmetro longitudinal da semente e número de flores femininas por inflorescência tiveram maior contribuição para divergência genética entre os clones analisados. A elevada correlação ($r = 0,854^{**}$) entre as similaridades de RAPD e as distâncias generalizadas de Mahalanobis, considerando somente a média e os extremos das estimativas, permitiu a predição de que os clones CIR217, CMA227, CMU300 e CMU611 são mais apropriados para gerar combinações superiores em um programa de cruzamentos.

*Comitê de orientação: Prof. Dr. João Bosco dos Santos (Orientador)

ABSTRACT

SOUSA, Nelcimar Reis. Genetic divergence in guarana tree germplasm. In: _____. **Genetic variability and estimation of genetic parameters in guarana tree germplasm**. 2003. Cap.1. p.31-66. Thesis (Doctor in Agronomy / Genetics and Plant Breeding)-Universidade Federal de Lavras, Lavras*

Guarana tree (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke) is well known commercially for the medicinal and stimulant properties of its seeds. Native of the Amazon, it presents a favorable domestication history to assume that every guarana crop has its origins from seeds disseminated by local Indian tribes all the way down to the lower Rio Negro, a region known for its tradition in planting the specie more specifically around Maués in the state of Amazonas. This study aimed to evaluate the genetic divergence of clones from the collection, through similarity measurements assessed by RAPD markers and, divergence of breeding clones through Mahalanobis genetic distance, estimated from characters related to fruit yield. In the molecular assessment 75 guarana clones from Embrapa Amazonia Ocidental clone bank have been evaluated and 27 of them, representing the basis of breeding, went through phenotypic evaluation. The similarity measurements indicated the existence of a wide genetic variation, however the structuring of variability was indifferent to the sample area. CMU948 and CMU949 clones were the most similar ones (0.82), while CMA227 and CMA463 clones were the least similar (0.49). Phenotypic variation analyses, in general, found the existence of variability for characters from the productive phase, which may be employed both in the selection of genitors for crossbreeding programs and for obtaining clone varieties. The least and most divergent clones were CMU624 and CMU871 ($D^2=19.58$) and CIR217 and CMU611 ($D^2=1219.55$), respectively. Average fruit weight, seed longitudinal diameter and number of female flowers per inflorescence made a greater contribution for genetic divergence among clones. The high correlation ($r=0.854^{**}$) between similarity measurements from RAPD and Mahalanobis distance, taking into account only the average and extreme estimates, allowed to predict that clones CIR217, CMA227, CMU300 and CMU611 are the most promising to be crossed in a breeding program.

*Comitê de orientação: Prof. Dr. João Bosco dos Santos (Orientador)

1 INTRODUÇÃO

O guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke) é uma espécie conhecida comercialmente pelas propriedades medicinais e estimulantes de suas sementes. Nativo da Amazônia apresenta um histórico de domesticação favorável à pressuposição de que todo guaraná cultivado seja procedente de sementes disseminadas pelas populações indígenas até ao baixo Rio Negro, região com maior tradição no cultivo da espécie, Maués, estado do Amazonas.

O aproveitamento da cafeína na industrialização de produtos naturais e refrigerantes tem motivado o estabelecimento de plantios racionais nos estados do Amazonas, Bahia e Mato Grosso ((Nascimento Filho & Atroch, 2002). A ocorrência de doenças e a baixa produtividade são os problemas que mais comprometem a sustentabilidade da cultura como agronegócio. Em razão disso, os objetivos do programa de melhoramento de guaraná têm sido direcionados para a obtenção de clones produtivos e resistentes. Os antigos plantios propagados por sementes de polinização livre constituem a principal reserva natural de alelos para a busca de soluções para os problemas tecnológicos do cultivo comercial da espécie.

Na Amazônia Central, a exploração genética da espécie iniciou-se na década de 1970, com várias coletas de amostras de sementes de plantas cultivadas em comunidades rurais de Maués. Na década seguinte, foram coletados materiais vegetativos em áreas de produtores tradicionais dos municípios de Iranduba, Manaus e Maués. Essas coletas resultaram na formação de uma banco de clones de guaraná, que consiste na atual fonte de variabilidade genética utilizada pela pesquisa para a identificação de germoplasma com elevado potencial produtivo e tolerância à antracnose (*Colletotrichum guaranicola* Albuquerque), principal doença do guaranazeiro.

Estudos biométricos aplicados ao germoplasma mais utilizado nessa primeira fase de pesquisa evidenciaram uma restrição na variabilidade genética (Nascimento Filho et al., 2001), o que tem dificultado a identificação de grupos claramente divergentes. Nessas situações, os marcadores moleculares representam uma alternativa para auxiliar na estruturação da coleção e orientar na definição de estratégias para ampliação da variabilidade genética.

Assim, a integração da análise molecular com as informações fenotípicas sobre caracteres poucos estudados ampliará os conhecimentos gerados sobre a espécie e facilitará a utilização do germoplasma para obtenção de cultivares comerciais e melhoria da qualidade de vida da população amazônica. Os objetivos do estudo foram avaliar a divergência genética de clones da coleção de germoplasma, por meio de RAPD e dos clones utilizados no melhoramento, por meio de caracteres relacionados com a produção de frutos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Avaliação molecular

2.1.1 Material vegetal

Foram avaliados 75 clones de guaraná da coleção de germoplasma da Embrapa Amazônia Ocidental, sediada no Campo Experimental da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, estado do Amazonas, à latitude de 02°52'S, longitude de 59°59'W.Gr. e altitude de 50m. Os clones são representativos da variabilidade conservada (Garcia et al., 1991) e utilizada no melhoramento (Nascimento Filho et al., 2000), conforme identificação na Tabela 1.

TABELA 1 Germoplasma de guaraná identificado pela série e sigla do local de coleta.

Série	Germoplasma conservado ¹	Germoplasma utilizado ¹
100	CMU174, CMA (189, 190, 191), CIR199	-
200	CIR 209, CMA (242, 243)	CIR217, CMA (222, 223, 224, 225, 227, 274, 276)
300	CMA (314, 347, 348, 352, 370, 372) CMU376	CMU (300, 375, 385, 381, 388, 389)
400	CMA (426, 431, 437, 463)	-
500	CMU (500, 505, 549)	-
600	CMU (614, 616, 617, 618, 619, 623, 625, 691)	CMU (601, 605, 607, 609, 610, 611, 612, 613, 624, 626, 631, 648)
700	CMU722	-
800	CIR (815, 819) CMU (896, 899)	CMU (861, 862, 871, 882)
900	CIR903, CMU (908, 911, 922, 932, 948, 949, 950, 952, 968)	-

¹ CIR (Clone de Iranduba) CMA (Clone de Manaus) CMU (Clone de Maués)

A série de identificação corresponde à ordem do registro do clone, independente do local de coleta. Assim, o estudo reúne clones descendentes das primeiras coletas de sementes em plantios tradicionais da região de Maués até clones da última coleta de estacas realizada nos municípios de Iranduba, Manaus e Maués, com representação de todas as séries numéricas. O germoplasma utilizado é representado por clones com média alta para produção de sementes secas, acima de 1kg/planta, constituindo na principal variação explorada pelo programa de melhoramento.

2.1.2 Extração de DNA

Aproximadamente 200mg de tecido de folhas jovens foram identificados, liofilizados e transportados para o Laboratório de Genética Molecular da UFLA. Cada amostra foi depositada em um almofariz e macerada com nitrogênio líquido e areia esterilizada, adicionando-se, em seguida, 10 mL de tampão de extração com CTAB a 65°C, juntamente com 200 µL de β-mercaptoetanol. Os componentes do tampão de extração foram 2% de CTAB, 100 mM de TRIS (pH = 8,0), 20 mM de EDTA (pH = 8,0), 1,4 M de NaCl e 1% de PVP (polivinilpirrolidona). As amostras maceradas foram transferidas para tubos de extração e incubadas a 65°C por 30 minutos, agitando-se a cada 10 minutos. Após resfriamento, foram adicionados 600 µL de clorofórmio-álcool isoamílico 24:1 (CIA) e os tubos foram agitados até a formação de uma emulsão homogênea. As amostras foram centrifugadas a 5.000 rpm, durante 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo, ao qual foram adicionados, aproximadamente, 50 µL de uma solução CTAB 10%, 1,4 M NaCl. A extração foi repetida com 600 µL de CIA. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo, ao qual foram adicionados, aproximadamente, 400 µL de isopropanol frio (-20°C) e conservado no freezer (-20° C) por 24 horas.

No dia seguinte, o material foi centrifugado a 6.000 rpm durante 5 minutos, o sobrenadante descartado e o pellet lavado duas vezes em 100 µL de etanol 95%. Após a secagem em temperatura ambiente por uma noite, o pellet foi ressuspenso em 25-100 µL de tampão TE (Tris, 1 mM e EDTA, 0,1 mM) contendo 10 µL de RNase e incubado a 37°C por 30 minutos. A quantificação foi realizada no fluorímetro Hoeffer Scientific TKO100, utilizando-se 2 µL da solução de DNA em 2 mL de tampão (Tris 10 mM, EDTA 1,0 mM, NaCl 0,1 M, pH 7,4), juntamente com 0,1 µL/mL do corante H32258. Finalmente, o DNA foi diluído com TE para a concentração de 10 ng/µL, usada na reação de RAPD.

2.1.3 Amplificação do DNA

A reação foi preparada para o volume de 15 µl, semelhante ao protocolo utilizado por Nienhuis et al. (1995). Cada microtubo com capacidade para 0,5 mL, continha 30 ng de DNA genômico, 50 µM de cada um dos desoxirribonucleotídeos trifosfatos (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 0,4 µM de um oligonucleotídeo (*primer*), 0,6 unidades da enzima *Taq* DNA polimerase e tampão de reação (50 mM tris pH 8,0; 2,0 mM MgCl₂; 20 mM de KCl; 250 µg/mL de albumina soro bovino; 1% de ficoll 400 e 1 mM de tartrazine).

As reações foram realizadas em termociclador Eppendorf MaterCycler Gradient 5331, programado para 40 ciclos, subdivididas em dois programas: 1) nos dois primeiros ciclos, a desnaturação do DNA era feita a 94°C por 2 minutos, o anelamento do primer a 37°C por 15 segundos e a elongação a 72°C por um minuto; 2) os 38 ciclos seguintes diferiram apenas no tempo de desnaturação do DNA que foi de 15 segundos. Após os 40 ciclos, a reação foi finalizada com a elongação final por 2 minutos a 72°C.

Os fragmentos amplificados de DNA foram separados em gel de agarose a 1% em tampão TBE (0,45 M de Tris-Borato e 0,01 M EDTA) durante 4 horas

a 70 volts. O gel foi corado com brometo de etídio a uma concentração de 0,5 µg/mL e as imagens dos géis visualizadas em transluminador de luz ultravioleta Fotodyne foram capturadas com máquina fotográfica digital e arquivadas em computador para análise dos padrões de bandas.

2.1.4 Análise da variação de RAPD

Cada banda polimórfica foi identificada como um único carácter, em que sua presença em um indivíduo foi designada por (1) e a ausência em outro indivíduo foi designada por (0). A matriz binária resultante foi utilizada para a estimativa das similaridades genéticas (\hat{sg}_{ij}) entre *i*-ésimo e *j*-ésimo clone, com base no coeficiente de similaridade de Dice (1945), segundo Rohlf (1992).

$$\hat{sg}_{ij} = \frac{2a}{2a + b + c}$$

Os significados de **a**, **b** e **c** encontram-se no item 2.3.1.2.

A análise de similaridade genética foi realizada por meio do programa NTSYS-pc 2.0 (Rohlf, 1992).

O erro padrão (\hat{s}_{sg}) associado a cada estimativa de similaridade foi estimado por meio da seguinte expressão (Hagiwara et al., 2001).

$$\hat{s}_{sg} = \sqrt{\hat{sg}_{ij} \frac{1 - \hat{sg}_{ij}}{(n-1)}}$$

em que **n** é o número total de combinações **a**, **b** e **c** para cada par de clones.

O agrupamento dos clones a partir das estimativas das similaridades genéticas foi realizado por meio de um dendrograma, obtido pelo método UPGMA por meio do programa NTSYS-pc 2.0 (Rohlf, 1992).

As plantas geneticamente diferentes foram identificadas no dendrograma a partir da estimativa de valor máximo significativo de similaridade (\hat{sg}_m), este

foi estimado por meio do teste t , utilizando-se a expressão (Hagiwara et al., 2001):

$$\hat{sg}_m = 1 - \left(t \frac{\alpha}{2m} \cdot \bar{s}_{sg} \right)$$

em que,

t : valor tabelado com $n-2$ graus de liberdade com a correção de Bonferroni

m : número de comparações;

\bar{s}_{sg} : média dos erros das estimativas de similaridades consideradas no dendrograma.

2.2 Avaliação fenotípica

2.2.1 Material e delineamento experimental

No estudo foram avaliados 27 clones representando o germoplasma utilizado no programa de melhoramento de guaraná (Tabela 2). Os dados foram coletados em um experimento de competição conduzido na Embrapa Amazônia Ocidental, município de Manaus, Amazonas.

O clima, segundo a classificação de Köppen, pertence ao grupo tropical chuvoso tipo *Afi*, com temperatura média do mês mais frio superior a 18°C e precipitação superior a 60 mm, no mês mais seco (Embrapa, 1998a).

TABELA 2 - Identificação dos clones de guaranzeiro avaliados.

Identificação dos clones ¹						
CIR217	CMA225	CMU300	CMU605	CMU611	CMU624	CMU862
CMA222	CMA227	CMU375	CMU607	CMU612	CMU626	CMU871
CMA223	CMA228	CMU388	CMU609	CMU613	CMU631	CMU882
CMA224	CMA274	CMU601	CMU610	CMU619	CMU861	-

¹ CIR (clone de Iranduba) CMA (clone de Manaus) CMU (clone de Maués)

O experimento foi instalado em 1996, em solo de capoeira, classificado como Latossolo amarelo, ácido, baixa fertilidade natural e textura média muito argilosa. Os tratos culturais seguiram as recomendações técnicas do sistema de produção de guaraná (Embrapa, 1998b).

O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados, com duas repetições. Cada parcela é formada por três plantas, no espaçamento 5m entre linhas e 5m entre plantas. Em cada planta foram amostrados quatro cachos com frutos maduros, nos quais foram efetuadas as coletas de dados nas safras de 2000 e 2001. O mesmo tamanho de amostra foi considerado para a avaliação de inflorescência.

2.2.2 Caracteres avaliados

No total foram avaliados onze caracteres relacionados com a fase produtiva, dos quais quatro foram avaliados em uma única safra. Cada safra foi considerada como uma variação fenotípica do carácter, perfazendo um total de dezoito variáveis.

▪ Caracteres avaliados em duas safras

- peso médio de cacho (g);
- peso total de frutos normais por cacho (g);
- número total de frutos normais por cacho;
- peso médio de fruto – determinado pela razão entre peso total de frutos e o número total de frutos por cacho (g);
- peso médio de semente (g) – determinado pela média dos pesos individuais de 20 sementes frescas com arilo, em balança de precisão;
- diâmetro longitudinal da semente (mm) – determinado pela média das medidas individuais de 20 sementes globosas, utilizando paquímetro digital;

- diâmetro transversal da semente (mm) – determinado pela média das medidas individuais de 20 sementes globosas, utilizando paquímetro digital.

▪ **Caracteres avaliados em safra única**

- comprimento do ráquis da inflorescência (cm);
- número total de flores femininas por inflorescência;
- número de frutos com duas sementes;
- número de frutos com três sementes.

2.2.3 Análise de dados

Nas análises de variância, os dados fenotípicos expressos em contagem foram transformados para $\sqrt{x+0,5}$, conforme Steel et al. (1997).

Com exceção da análise de variância multivariada, que foi efetuada no programa SAS (SAS Institute, 2000), as demais análises foram todas realizadas utilizando-se o aplicativo GENES (Cruz, 2003).

2.2.3.1 Análise de variância univariada

Inicialmente, os dezoito caracteres foram submetidos à análise de variância para verificar a existência de variabilidade entre os clones, com base no modelo:

$$Y_{ij} = m + c_i + b_j + e_{ij}$$

em que,

Y_{ij} : é a observação associada ao i -ésimo clone do j -ésimo bloco;

m : é a média geral;

c_i : efeito aleatório do do i -ésimo clone;

b_j : efeito do j -ésimo bloco;

e_{ij} : erro experimental, assumindo que os erros são independentes com distribuição normal $N(0, \sigma^2)$.

2.2.3.2 Análise de variância multivariada

O mesmo modelo foi utilizado para avaliar a variabilidade genética das variáveis em conjunto, assumindo que o erro experimental e_{ij} é independente com distribuição multinormal, com vetor de média zero e matriz de covariância Σ .

O critério de Wilks foi empregado para avaliar se houve diferenças entre os vetores de médias dos clones, com base na estatística Lambda (Λ), dada por

$$\Lambda = \frac{Det(E)}{Det(E + T)}$$

em que,

E: é a matriz de soma de quadrados e produtos residual;

T: é a matriz de soma de quadrados e produtos entre clones;

A distribuição de Λ é muito complexa e uma alternativa para avaliar sua significância é a sua transformação para F, que possui tabelas próprias já preparadas. Uma fórmula aproximada é a de Harris (1975) apresentada por Gomes (1990):

$$F_{[p(n-1), ab-c]} = \left[\left[\frac{1}{\Lambda} \right]^{1/b} - 1 \right] \frac{ab - c}{p(n-1)}$$

em que,

p : é o número de caracteres analisados

n : é o número de clones

a = gl do erro - 0,5 (p-n+2)

c = 0,5 [p(n-1)-2]

b = 1 se $p^2 + (n-1)^2 = 5$

$b = \left[\frac{p^2(n-1)^2 - 4}{p^2 + (n-1)^2 - 5} \right]^{1/2}$ se $p^2 + (n-1)^2 \neq 5$

2.2.4 Análise da divergência genética

2.2.4.1 Estimação das distâncias genéticas

As estimativas das distâncias generalizadas de Mahalanobis D^2 foram obtidas a partir das variáveis transformadas por condensação pivotal, por meio da expressão (Cruz, 1997):

$$\hat{D}_{ii'}^2 = \sum_j (z_{ij} - z_{i'j})^2$$

em que,

$\hat{D}_{ii'}^2$: distância de Mahalanobis entre os genótipos i e i' ;

z_{ij} : média do i -ésimo clone em relação à j -ésima variável com variância residual igual a 1.

A transformação da matriz de variáveis originais X em matriz de variáveis Z foi efetuada por meio da expressão:

$$Z = XV',$$

sendo V' a matriz de transformação.

A padronização das variáveis transformadas foi efetuada por meio da expressão:

$$z_j = \frac{Z_j}{\sqrt{\hat{V}(Z_j)}}$$

2.2.4.2 Análise de agrupamento

Utilizou-se a matriz simétrica gerada pelas distâncias entre pares de clones para a formação dos grupos. Foram utilizados dois métodos de agrupamento: o hierárquico aglomerativo UPGMA e o hierárquico divisivo de otimização, proposto por Tocher (Rao, 1952).

No método UPGMA, o valor da distribuição de D^2 utilizado como critério de corte de significância foi obtido com emprego do programa proposto por Mourão Jr. (2001).

2.2.4.3 Importância relativa dos caracteres para divergência genética

A contribuição de cada caráter para os valores da distância de Mahalanobis foi estabelecida pelo método de Singh (1981), que considera de menor importância as características que apresentarem menor variabilidade. A estatística de Singh ($S_{.j}$) foi estimada de acordo com Cruz (1997)

$$\text{Considerou-se que, } \hat{D}_{ii'}^2 = \sum_{j=1}^n \sum_{j'=1}^n \omega_{jj'} d_j d_{j'}$$

em que,

$\omega_{jj'}$: é o elemento da j -ésima linha e j' -ésima coluna da inversa da matriz de variâncias e covariâncias residuais.

$S_{.j}$ é estimado a partir do total das distâncias envolvendo todos os genótipos:

$$\sum_k \sum_{i'} \hat{D}_{ii'}^2 = \sum_m \hat{D}_m^2 = \sum_{j=1}^n \hat{S}_{.j}$$

2.3 Correlação entre dados de RAPD e dados fenotípicos

A associação das estimativas de similaridades de RAPD com as das distâncias generalizadas de Mahalanobis para 26 clones comuns aos dois estudos foi avaliada por meio da correlação de Sperman (Steel et al., 1997). Para a estimativa da correlação foram considerados apenas os valores médios, mínimos e máximos das similaridades e distâncias entre cada par de clones.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise dos dados de RAPD

Foram testados 50 *primers*, mas somente dezesseis apresentaram qualidade em termos de resolução e polimorfismo. Os selecionados produziram 150 bandas úteis para a análise da variabilidade do germoplasma de guaraná. O número de bandas polimórficas variou de cinco (OPAQ-05) a treze (OPAL-09 e OPAL-20), com a média em torno de nove bandas por *primer* (Tabela 2).

Em estudos de diversidade, a quantidade de bandas polimórficas para amostragem do genoma de espécies agrícolas não tem limitado o emprego de RAPD, embora o ideal seja o maior número possível. Dudley (1994) concluiu que resultados obtidos com 50 a 100 bandas tendem a coincidir com os de *pedigree* e Colombo et al. (1998) acrescentaram que o mesmo número é suficiente para estimar relações genéticas dentro e entre espécies.

TABELA 2 *Primers* que produziram bandas polimórficas em guaraná.

<i>Primers</i>	Bandas polimórficas	<i>Primers</i>	Bandas polimórficas
OPAD-05	08	OPAL-12	09
OPAE-01	10	OPAL-20	13
OPAE-18	07	OPAP-03	10
OPAH-03	09	OPAP-15	10
OPAH-09	08	OPAQ-05	05
OPAJ-03	09	OPAQ-12	10
OPAK-09	10	OPAT-05	10
OPAL-09	13	OPAT-15	09

Em outras espécies propagadas assexuadamente, a quantidade de bandas tem sido variável, 32 em ponkan mandarim (Colleta Filho, 2000), 88 em mandioca (Colombo et al., 2000) e 149 em acerola (Salla et al., 2002). Em estudo com rambutan (*Nephelium lappaceum* L.), espécie da mesma família do guaraná, 73 bandas polimórficas foram suficientes para caracterizar acessos da coleção de germoplasma (Chew et al., 2002). Assim, as 150 bandas selecionadas estão dentro dos números aceitáveis para estudos de diversidade em coleções de germoplasma.

Observa-se, ainda, que o número de bandas polimórficas por *primer* foi maior do que tem sido observado na maioria dos estudos com RAPD em espécies cultivadas anuais, o que sugere, em princípio, um elevado polimorfismo entre os clones de guaraná. Comparável grau de polimorfismo foi verificado em fruteiras de clima temperado. Bianchi et al. (2003) obtiveram 187 bandas polimórficas, com média de 15,58, ao estudarem a variabilidade genética de ameixeiras com 12 *primers* e Sawazaki et al. (2002) geraram 250 bandas polimórficas, com variação entre 10 e 19, ao caracterizarem cultivares de pereiras com 26 *primers*.

3.2 Análise da variação molecular

A variação genética dos clones de guaraná pode ser analisada pela média e amplitude das estimativas de similaridades (Tabela 3), distribuição de frequência das estimativas (Figura 1) e pelo dendrograma (Figura 2).

TABELA 3 Similaridades médias, mínimas, máximas e coeficientes de variação (CV) entre 75 clones de guaranazeiro.

Clones*	Média	Mínimo	Máximo	CV (%)	Clones	Média	Mínimo	Máximo	CV (%)	Clones	Média	Mínimo	Máximo	CV (%)
CMU174	0,64	0,51	0,71	6,37	CMU381	0,67	0,56	0,78	6,52	CMU624	0,69	0,56	0,77	5,87
CMA189	0,68	0,55	0,75	5,89	CMU385	0,68	0,59	0,78	6,39	CMU625	0,68	0,55	0,75	6,01
CMA190	0,65	0,54	0,76	6,73	CMU388	0,67	0,54	0,77	6,79	CMU626	0,70	0,61	0,79	5,39
CMA191	0,66	0,57	0,76	6,17	CMU389	0,68	0,58	0,75	5,44	CMU631	0,67	0,59	0,74	5,03
CIR 199	0,64	0,54	0,74	6,56	CMA426	0,66	0,56	0,78	7,57	CMU648	0,71	0,62	0,79	5,57
CIR 209	0,62	0,55	0,72	6,19	CMA431	0,67	0,57	0,77	5,84	CMU691	0,68	0,59	0,77	5,43
CIR 217	0,66	0,56	0,74	5,85	CMA437	0,68	0,56	0,77	6,12	CMU722	0,70	0,60	0,77	4,78
CMA222	0,64	0,55	0,73	6,41	CMA463	0,61	0,49	0,68	6,71	CIR 815	0,66	0,55	0,73	5,94
CMA223	0,66	0,53	0,75	5,96	CMU500	0,63	0,55	0,75	6,53	CIR 819	0,67	0,58	0,77	5,56
CMA224	0,64	0,56	0,73	6,06	CMU505	0,67	0,59	0,75	5,99	CMU861	0,66	0,56	0,77	6,87
CMA225	0,67	0,54	0,76	7,36	CMU549	0,70	0,63	0,79	5,13	CMU862	0,69	0,60	0,76	5,04
CMA227	0,61	0,49	0,72	6,44	CMU601	0,66	0,55	0,74	6,41	CMU871	0,67	0,59	0,76	5,96
CMA242	0,68	0,58	0,74	4,91	CMU605	0,66	0,56	0,76	6,46	CMU882	0,71	0,61	0,79	5,57
CMA243	0,70	0,62	0,81	5,77	CMU607	0,67	0,57	0,74	5,95	CMU896	0,61	0,53	0,71	6,67
CMA274	0,65	0,58	0,73	5,48	CMU609	0,68	0,58	0,76	5,55	CMU899	0,70	0,60	0,79	5,59
CMA276	0,67	0,58	0,75	5,94	CMU610	0,66	0,58	0,76	5,75	CIR 903	0,69	0,60	0,78	5,17
CMU300	0,66	0,54	0,75	6,53	CMU611	0,67	0,58	0,77	5,54	CMU908	0,66	0,58	0,73	5,30
CMA314	0,66	0,58	0,76	5,73	CMU612	0,67	0,55	0,77	6,68	CMU911	0,67	0,58	0,79	6,43
CMA347	0,64	0,54	0,75	6,77	CMU613	0,68	0,57	0,77	7,00	CMU922	0,66	0,56	0,75	6,60
CMA348	0,64	0,55	0,74	6,65	CMU614	0,66	0,56	0,78	6,61	CMU932	0,68	0,61	0,76	5,33
CMA352	0,71	0,62	0,81	5,43	CMU616	0,66	0,55	0,73	5,77	CMU948	0,72	0,60	0,82	5,58
CMA370	0,67	0,59	0,79	6,35	CMU617	0,67	0,56	0,76	6,04	CMU949	0,72	0,62	0,82	5,26
CMA372	0,63	0,56	0,73	5,91	CMU618	0,68	0,59	0,79	6,19	CMU950	0,67	0,57	0,77	6,49
CMU375	0,65	0,56	0,72	5,56	CMU619	0,66	0,57	0,76	5,95	CMU952	0,68	0,57	0,77	6,18
CMU376	0,62	0,53	0,72	6,65	CMU623	0,62	0,51	0,71	7,04	CMU968	0,64	0,56	0,73	6,45

* germoplasma utilizado no programa de melhoramento em negrito

Na Tabela 3, observa-se que os coeficientes de similaridade variaram de 0,49 a 0,82, com similaridade média de 0,67. Os clones CMU948 e CMU949 foram os mais similares (0,82), enquanto CMA227 e CMA463 foram os menos similares (0,49). O grau de similaridade foi próximo ao observado em estudos da variabilidade intraespecífica de germoplasma de espécies alógamas, tais como 0,49 a 0,96, em rambutan (Chew et al., 2002); 0,53 a 0,90 em pupunha (Sousa et al., 2001) e 0,55 a 0,91 em jaborandi (Moura, 2003).

Os clones CMU623, CMA224 e CMA227 foram os menos similares ao se considerar que estiveram quase sempre presentes nas similaridades mínimas registradas (Tabela 1A).

Considerando todas as comparações entre as similaridades dos clones avaliados, verificou-se que os maiores coeficientes de similaridade média entre os pares de clones foram para os clones de Manaus CMA(243 e 352) e oito clones de Maués CMU (549, 626, 648, 722, 882, 899, 948 e 949), com média entre 0,70 a 0,72. Os clones com menores coeficientes médios foram CIR209, CMA (227, 372, 463) e CMU (376, 500, 623, 896), com média entre 0,61 a 0,63 (Tabela 3).

O maior percentual de similaridades genéticas (24,68%) situou-se na classe que inclui a média (0,65-0,68), enquanto menos de 1% correspondeu aos extremos das estimativas (Figura 1). O parentesco entre os indivíduos segue um padrão de distribuição normal e contínua, sugerindo que o germoplasma avaliado representa a variabilidade da espécie, dentro da amplitude de variação conservada.

No dendrograma pode ser visualizada uma elevada variabilidade genética, expressa pelo número elevado de coeficientes de similaridade próximo a 0,68 (Figura 2). Neste nível de similaridade também foi observada uma tendência a formação de um grande grupo em relação ao clone pertencente ao grupo do germoplasma utilizado CMA227 e, principalmente, outros clones de

menor importância atual para o melhoramento - CMA (190, 348, 372, 463), CIR (199, 209), CMU (376, 500, 505, 616, 623, 815, 896, 968).

Ao se comparar os coeficientes de similaridade máximos e mínimos do germoplasma estudado, observa-se que o grupo de clones representando o germoplasma conservado parece conter mais variação que o grupo de germoplasma utilizado no melhoramento (Tabela 3). Essa tendência de relacionamento entre o germoplasma do melhoramento também pode ser visualizada no dendrograma pela formação de pequenos subgrupos, como o dos clones CMU610, CMU861 e CMA223 (Figura 2). Entretanto, essa diferença entre os dois grupos de germoplasma não permite interpretações sobre o grau de estreitamento da variabilidade genética dos clones utilizados no programa de melhoramento, porém, nota-se que a diversidade nos respectivos grupos ainda é muito elevada.

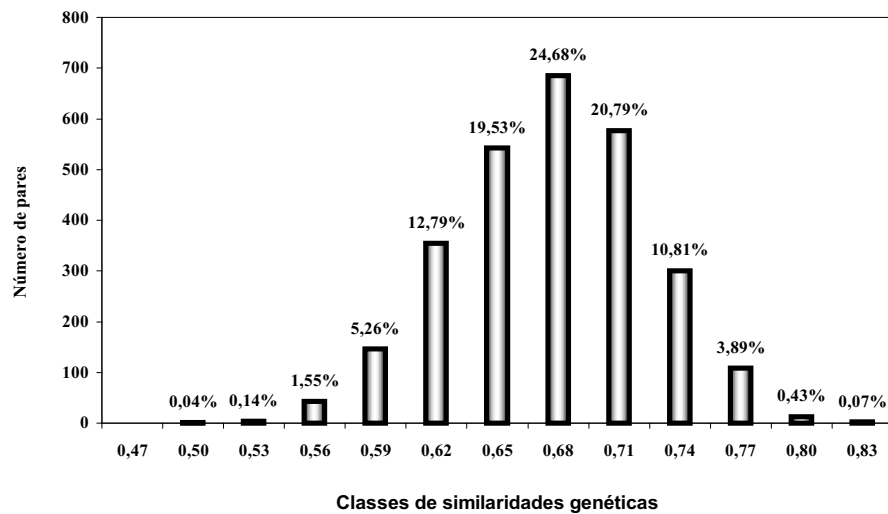


FIGURA 1 Distribuição de frequências das estimativas de similaridades genéticas entre germoplasma de guaraná.

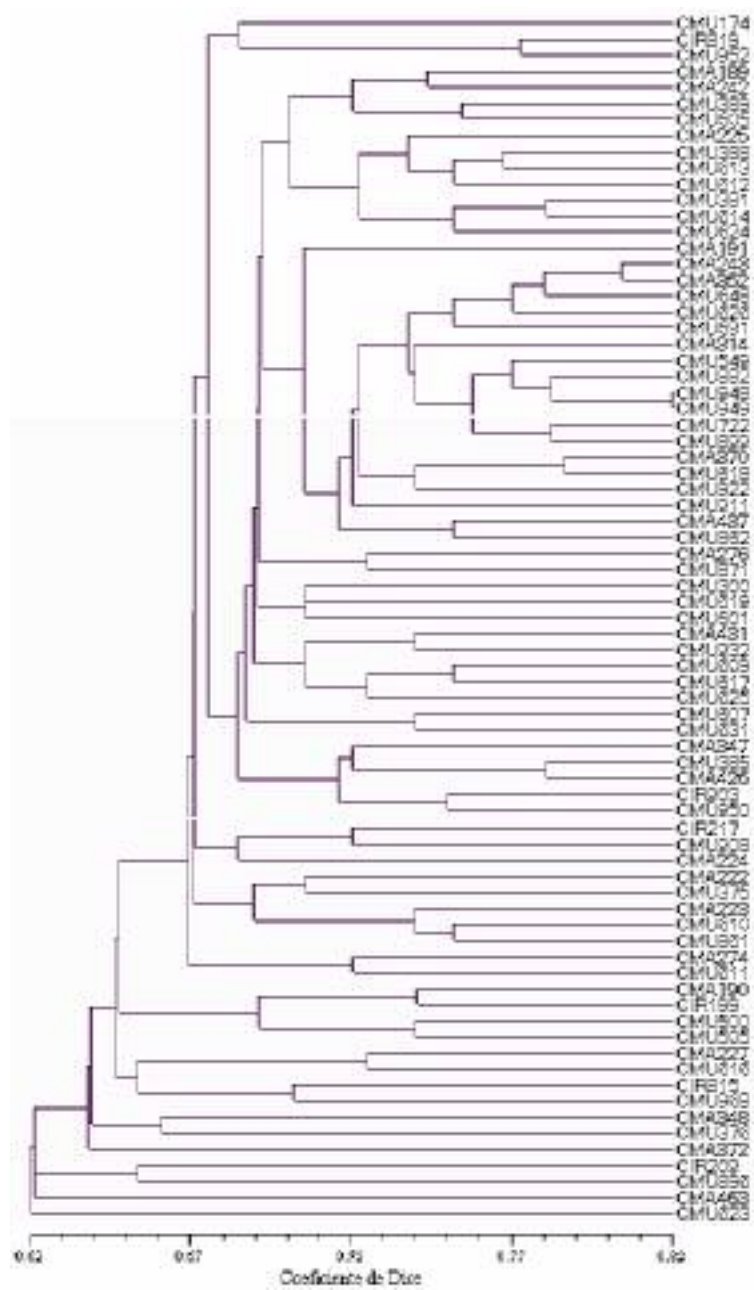


FIGURA 2 Dendrograma das similaridades genéticas entre germoplasma guaraná, método UPGMA.

No dendograma é claro o relacionamento entre dois clones obtidos de estacas colhidas na mesma plantação de um produtor rural do município de Maués, CMU948 e CMU949. A similaridade entre esses dois clones foi máxima em comparação a todos pares medidos, porém, pelo teste *t* com a correção de Bonferroni, o coeficiente de similaridade 0,82 não indica que eles possam ser considerados duplicatas. Em milho, a similaridade mínima para linhagens serem consideradas essencialmente endogâmicas deve ter valor superior a 0,90 (Troyer & Rocheford 2002). Duplicidades com similaridades máximas (1,00) foram encontradas na coleção de clones de tangerinas do grupo “Ponkan” (Colleta Filho, 2000).

O padrão de agrupamento no dendograma, a baixa frequência de indivíduos mais similares e o valor máximo de similaridade genética de 0,82 sugerem que a coleção conserva ampla variação genética. Vale salientar que os clones predominantes na coleção são de Maués e estão distribuídos em diferentes grupos no dendograma, indicando a elevada diversidade na região de origem do guaraná. Considerando que a variação genética detectada por RAPD foi ampla, acredita-se que seria mais vantajoso um esforço de prospecção para localização de populações naturais na região de distribuição da espécie, alto do Rio Negro, no estado do Amazonas, do que novas coletas em áreas de produtores.

Em geral, a estruturação da variabilidade foi indiferente ao local de coleta do germoplasma estudado, o que estava previsto em função das incertezas quanto à origem primária das plantas cultivadas fora da região de Maués e, também, pelo tempo de duração das gerações demandadas para uma espécie perene sofrer modificações genéticas em favor da adaptação. Os resultados fortalecem a idéia de que todo o germoplasma de guaraná realmente possa ter sido derivado da população de plantas cultivadas naquela região.

3.3 Avaliação fenotípica

3.3.1 Análise de variância univariada

O resumo das análises de variâncias univariadas pode ser visualizado na Tabela 4. A maioria dos coeficientes de variação foi baixo; somente para peso médio de cacho e peso total de frutos normais por cacho, safra 1, os valores foram mais altos, na ordem de aproximadamente 20%.

Atroch & Nascimento Filho (2001) encontraram um coeficiente de variação experimental de 48,91%, considerado de média precisão, para a característica produção de frutos frescos em avaliações envolvendo 230 clones do programa de seleção clonal do guaranazeiro. Os CVs estimados estão muito abaixo desse valor e isso implica que a precisão experimental para os caracteres do presente estudo pode assegurar a detecção de diferenças genéticas entre os clones.

Desse modo, diferenças significativas entre os clones foram constatadas para quase todas os caracteres, exceto para peso médio do cacho, peso total de frutos normais por cacho, número total de frutos por cacho na safra 1 e número de frutos com duas sementes por cacho. Esse resultado sugere que há variabilidade para a maioria dos caracteres avaliados.

A variação de caracteres de uma safra para outra pode ser atribuída a influências climáticas. A floração do guaraná normalmente ocorre nos meses de julho a setembro, período menos chuvoso e crítico para as espécies com floração sazonal, tanto que qualquer variação no intervalo de ocorrência de chuvas afeta drasticamente a polinização e frutificação. Silva (2001) constatou que chuvas fortes nos meses de floração prejudicam a produção de sementes secas de guaraná. Outro aspecto a considerar, de acordo com Resende (2002), é a possível alteração no controle genético dos caracteres ao longo das idades das espécies perenes.

TABELA 4 Resumo das análises de variâncias e respectivos coeficientes de variação (CV), média, mínimo e máximo para dezoito caracteres avaliados em 27 clones de guarana.

Caracteres	Safr	Quadrados médios		Média	Mínimo	Máximo	CV (%)
		Clones	Erro				
Peso médio de cacho	1	868,183	481,032	106,716	47,02	171,91	20,552
	2	252,018**	98,730	89,664	67,61	122,61	11,082
Peso total de frutos normais por cacho	1	673,847	425,202	95,124	39,19	162,17	21,677
	2	221,549*	89,830	82,690	63,77	113,22	11,462
Nº total de frutos normais por cacho	1	0,428	0,309	23,217	13,71	37,32	11,402
	2	0,605**	0,083	21,968	12,75	33,72	6,079
Peso médio de frutos	1	1,069**	0,293	4,230	2,70	6,77	12,796
	2	2,119**	0,213	3,687	1,85	6,22	12,522
Peso médio de semente	1	0,101**	0,025	1,394	0,74	2,03	11,419
	2	0,123**	0,021	1,316	0,92	2,02	11,067
Diâmetro longitudinal da semente	1	1,268**	0,191	10,971	9,20	12,45	3,985
	2	1,031**	0,091	11,000	9,48	12,36	2,750
Diâmetro transversal da semente	1	0,800*	0,330	11,886	10,04	13,13	4,832
	2	0,584**	0,094	11,900	10,64	13,64	2,580
Comprimento do ráquis	1	59,501**	18,105	22,728	12,30	40,10	18,721
Nº de flores femininas por inflorescência	1	3,243**	0,400	68,556	37,69	159,52	7,606
Nº de frutos com 2 sementes por cacho	2	0,144	0,105	5,700	2,06	10,39	12,987
Nº de frutos com 3 sementes por cacho	2	0,318**	0,046	2,157	1,00	6,63	13,219

* e ** Significativos pelo teste F a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.

Por outro lado, não se pode desprezar a instabilidade do comportamento das espécies perenes ao longo dos anos. Nesse sentido, Nascimento Filho et al. (2000) detectaram interação de clones x anos nas avaliações de produção de frutos frescos em treze experimentos de competição de clones, no período de 1985 a 1994. Nascimento Filho (2003) considerou a influência de anos, um fator imprevisível sobre o comportamento produtivo ao realizar estudos de estabilidade com o mesmo grupo de clones de guaraná.

3.3.2. Análise de variância multivariada

Pelo teste de Wilks, o valor de Lambda (Λ), correspondeu a um F de 2,87 ($p < 0,0001$), indicando a existência de diferenças significativas entre os clones para os caracteres em conjunto.

3.3.3 Distância generalizada de Mahalanobis

A distância média entre os clones foi de 272,78, sendo a menor estimativa ($D^2=19,58$) entre os clones CMU624 e CMU871; e a maior ($D^2=1219,55$) para os clones CIR217 e CMU611 (Tabela 5).

Os valores extremos e contrastantes para as distâncias entre clones sugerem a existência de ampla variabilidade para os caracteres de frutos nos clones utilizados no programa de melhoramento de guaraná. Notou-se que não houve coincidência com os pares identificados por marcadores RAPD, o que, até certo ponto era esperado em virtude da característica aleatória do marcador molecular, que provavelmente não está associado aos caracteres utilizados.

TABELA 5 Distâncias generalizadas de Mahalanobis (D^2) médias, mínimas, máximas e coeficientes de variação (CV) entre 27 clones de guaranazeiro..

Clones	D^2 Média	D^2 Mínima	D^2 Máxima	CV (%)
CIR 217	432,09	92,87	1219,55	59,29
CMA222	265,92	35,28	940,72	78,70
CMA223	202,89	80,87	595,94	64,01
CMA224	339,35	80,94	594,80	35,81
CMA225	224,85	70,28	711,28	69,47
CMA227	259,38	80,94	487,96	41,43
CMA228	243,47	74,31	431,25	35,54
CMA274	226,70	65,79	519,55	41,36
CMU300	249,83	35,28	868,55	77,08
CMU375	274,71	124,55	640,43	42,78
CMU388	248,73	91,16	612,93	49,63
CMU601	235,12	41,86	596,86	62,25
CMU605	286,41	39,40	684,31	60,89
CMU607	192,51	69,37	532,41	61,77
CMU609	226,07	31,39	627,86	64,56
CMU610	260,32	30,26	566,21	59,73
CMU611	566,24	52,2	1219,55	43,31
CMU612	228,88	52,02	591,78	60,15
CMU613	339,70	65,79	805,38	46,25
CMU619	207,14	30,26	532,66	67,05
CMU624	177,20	19,58	472,68	66,96
CMU626	241,70	67,93	856,70	79,17
CMU631	218,95	68,52	641,45	61,84
CMU861	182,90	68,52	520,05	57,64
CMU862	447,22	52,2	984,87	45,10
CMU871	183,67	19,58	530,16	69,62
CMU882	402,99	176,69	638,78	32,44

3.3.4 Análise de agrupamento

3.3.4.1 Método de otimização de Tocher

Os clones foram separados em sete grupos (Tabela 6). O grupo G1 reuniu 59%, dos indivíduos, seguidos pelo G2, com 15% e G3, com 11%. Os

quatro grupos restantes foram unitários e incluíram os clones CMU388 (G4), CIR217 (G5), CMU375 (G6) e CMU882 (G7).

Os clones CMA foram distribuídos em três grupos (G1, G2 e G3), sendo os clones CMA (224, 227 e 228) exclusivos no grupo G3. O posicionamento desses clones em diferentes grupos é discordante dos resultados encontrados por Nascimento Filho et al. (2001) que, ao analisarem a divergência de 148 clones com base em caracteres vegetativos e produção de sementes secas, verificaram que, exceto o clone CMA223, os demais se mantiveram todos no mesmo grupo. Por outro lado, o clone CMA223 formou um pequeno subgrupo com os clones CMU (610 e 871) no dendrograma com base na similaridade de RAPD e, os mesmos clones permaneceram no mesmo grupo nas análises de agrupamento com base na distância generalizada de Mahalanobis. Pelo menos com base no agrupamento desses três clones, o resultado concorda com Nascimento Filho et al. (2001).

TABELA 6 Agrupamento de 27 clones com base no método de Tocher a partir da distância generalizada de Mahalanobis (D^2).

Grupos	Nº de Indivíduos	Clones
G1	16	CMA (222, 223, 225) CMU (300, 601, 605, 607, 609, 610, 612, 619, 624, 626, 631, 861, 871)
G2	4	CMA274 CMU (611, 613, 862)
G3	3	CMA (224, 227, 228)
G4	1	CMU388
G5	1	CIR217
G6	1	CMU375
G7	1	CMU882

Na delimitação dos grupos é interessante notar o isolamento do clone CIR217, um clone coletado no município de Iranduba. Provavelmente, a força da seleção artificial para o caráter produção de sementes teve mais influência nesse distanciamento genético que as condições ambientais do local de coleta, visto não ter havido o mesmo comportamento para os clones que foram coletados no município de Manaus (CMA).

Apesar da maioria dos clones CMU pertencer ao Grupo 1, merece atenção a presença desses clones em mais três grupos. Isto sugere que os clones de Maués apresentam elevada divergência genética, ao contrário do que se imaginava em razão dos históricos de domesticação e cultivo da espécie.

De maneira geral, a distribuição das freqüências das distâncias genéticas de Mahalanobis deixa clara a ampla variação entre clones, embora se observe maior freqüência de clones menos divergentes (Figura 3).

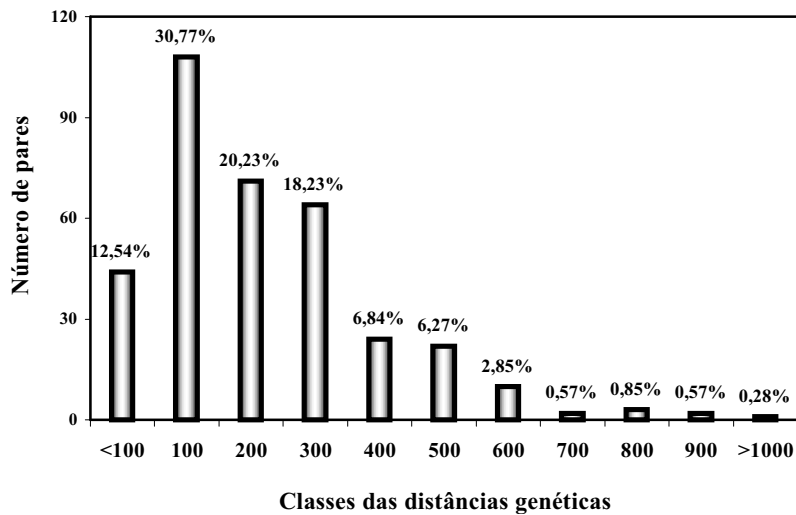


FIGURA 3 Distribuição de freqüências das estimativas de distâncias generalizadas de Mahalanobis entre clones guaraná.

A maioria das estimativas de distâncias foi menor que a média (272,78), enquanto menos de 3% apresentaram valores superiores a 700. Comparando com a distribuição de frequência de similaridades de RAPD, nota-se que os clones do programa de melhoramento apresentaram maior similaridade em relação aos caracteres relacionados com a inflorescência e frutificação, o que pode refletir os efeitos indiretos da pressão de seleção para a produção de sementes secas.

3.3.4.2 Método hierárquico UPGMA

Neste procedimento foram identificados 12 grupos geneticamente diferentes. Entretanto, dentro da maioria dos grupos há clones muito semelhantes, como CMU624 e CMU871 (Figura 4). Esses clones não devem ser cruzados se o objetivo for a seleção de caracteres relacionados aos componentes de produção de frutos. Os clones mais divergentes foram CIR217, CMA228 e CMU882.

Todas as metodologias utilizadas neste estudo detectaram certo grau de divergência entre os clones utilizados no melhoramento de guaraná, mas sem associação com o local de coleta do material, confirmando as pressuposições de origem comum da população de plantas do guaraná. Resultados semelhantes foram encontrados em outras espécies perenes que tiveram germoplasma comum amplamente disseminado pelos agricultores. Em cacau (Dias et al., 1997) e café conillon (Fonseca, 1999) não foram encontradas associações dos grupos estabelecidos pela análise de divergência com o local de coleta. Fonseca (1999) acredita que isso se deve ao intercâmbio de sementes muito frequentes entre os produtores dos diferentes municípios da região na qual os genótipos foram selecionados por ocasião do estabelecimento da espécie. Na Amazônia, a migração de produtores orientada pelos cursos dos rios é a causa mais provável de disseminação de sementes.

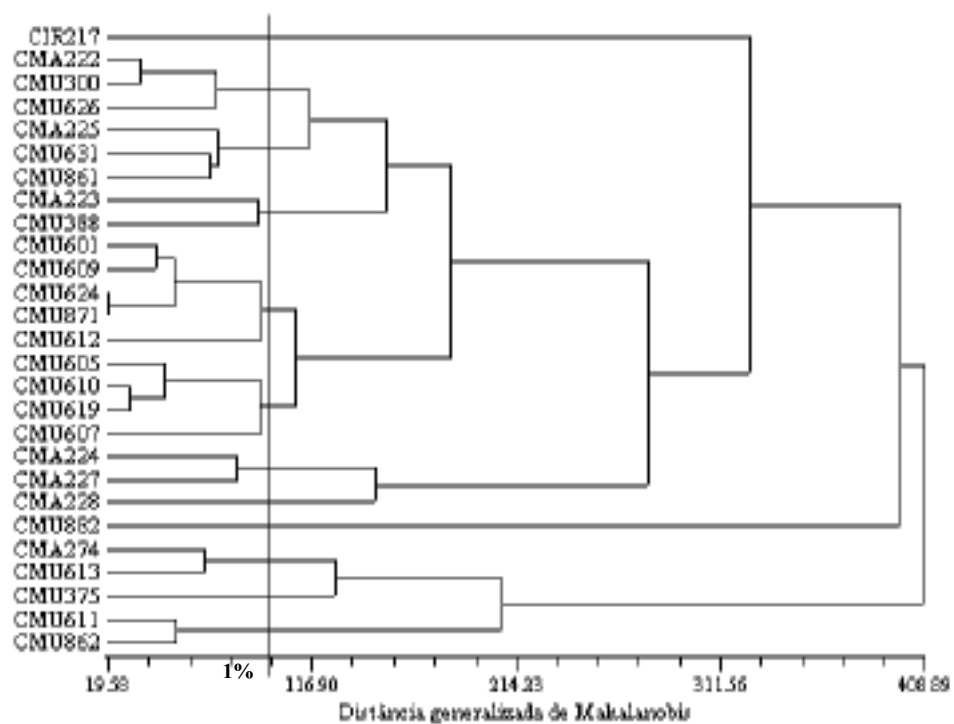


FIGURA 4 Dendrograma das distâncias generalizadas de Mahalanobis entre clones de guaraná, método UPGMA.

Nos dois métodos empregados para aglomeração foi coincidente o distanciamento dos clones CIR217 e CMU882, isto sugere que o cruzamento destes clones pode gerar indivíduos com características de frutos superiores.

A análise da variação fenotípica, de modo geral, constatou a existência de variabilidade para caracteres da fase produtiva, que pode ser empregada tanto na seleção de genitores para programas de cruzamentos como na obtenção de variedades clonais com menor vulnerabilidade quanto a doenças.

3.3.5 Importância relativa dos caracteres

Os caracteres de inflorescência e infrutescência que tiveram maior participação na variação fenotípica dos clones elites de guaraná estão em destaque na Tabela 7.

TABELA 7 Contribuição relativa dos caracteres para divergência com base na distância de Mahalanobis e no método de Singh (1981).

Caracteres	Safra	S_j	%
Peso médio de cacho	1	8920,15	7,55
	2	9366,12	7,93
Peso total de frutos normais por cacho	1	9080,40	7,69
	2	2743,69	2,32
Nº total de frutos normais por cacho	1	1233,09	1,04
	2	5673,40	4,81
Peso médio de fruto	1	3065,99	2,60
	2	16078,68	13,62
Peso médio de semente	1	3767,37	3,19
	2	4241,40	3,59
Diâmetro longitudinal da semente	1	12045,83	10,20
	2	14844,64	12,57
Diâmetro transversal da semente	1	1209,98	1,03
	2	5952,95	5,04
Comprimento do ráquis	1	3260,37	2,76
Nº de flores femininas por inflorescência	1	14511,38	12,29
Nº de frutos com 2 sementes por cacho	2	1648,19	1,40
Nº de frutos com 3 sementes por cacho	2	442,13	0,37

Em ordem, os caracteres peso médio de fruto (13,62%), diâmetro longitudinal da semente nas duas safras (12,57%, 10,20%) e número de flores femininas por inflorescência (12,29%) foram os que mais contribuíram para a divergência genética dos clones avaliados. Os resultados evidenciam a importância desses caracteres para divergência, alguns com oportunidade de serem explorados na caracterização de germoplasma, como peso médio de fruto e diâmetro longitudinal da semente.

3.4 Correlação entre dados de RAPD e fenotípicos

O coeficiente de correlação de Spearman entre as similaridades de RAPD e as distâncias generalizadas de Mahalanobis foi alto e significativo, $r = 0,854^{**}$. O resultado sugere que na amostragem do genoma de guaraná, os marcadores RAPD podem ter incluído variações dos caracteres relacionados com a fase produtiva que, devido à complexidade de seu controle genético, provavelmente abrange fragmentos de DNA distribuídos em boa parte do genoma.

A elevada correlação entre os dois conjuntos de dados ofereceu suporte para auxiliar na predição dos melhores clones para cruzamentos, visto que genitores com médias altas e divergentes ampliam as possibilidades de seleção de genótipos superiores na população segregante e reduzem o número de cruzamentos necessários para avaliação em campo. Assim, considerando as informações moleculares e fenotípicas, presume-se que cruzamentos envolvendo os clones CIR217, CMA227, CMU300 e CMU611 poderiam resultar em combinações com maior potencial para seleção de clones produtivos. Em geral, esses clones se sobressaíram em valores médios, máximos ou mínimos dentre as comparações de similaridades e distâncias genéticas (Tabelas 3 e 5).

4 CONCLUSÕES

A variação existente no germoplasma de guaraná foi eficientemente identificada com marcadores moleculares e dados fenotípicos da fase produtiva.

A variação molecular foi altamente correlacionada com a variação fenotípica, considerando os valores médios, mínimos e máximos das similaridades e distâncias genéticas.

Os caracteres peso médio de fruto e tamanho da semente são caracteres potenciais para serem empregados como descritores na caracterização de germoplasma.

Não houve associação da diversidade genética com os locais de coleta do germoplasma.

A pesquisa permitiu a predição de que os clones CIR217, CMA227, CMU300 e CMU611 são provavelmente os mais apropriados para gerar combinações superiores em um programa de cruzamentos.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATROCH, A.L.; NASCIMENTO FILHO, F.J. do. Avaliação do programa de melhoramento genético do guaranazeiro via seleção clonal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 1., 2001, Goiânia, GO. **Anais...** Goiânia: EMBRAPA Arroz e Feijão, 2001. CD-ROM. (Documentos, 113).

BIANCHI, V. J.; FACHINELLO, J. C.; SCHUCH, M. W. Rapds na caracterizacão genético-molecular e no estudo da variabilidade genética de cultivares de ameixeiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.2, p.272-274, 2003.

COLETTA FILHO, H. D. et al. The use of random amplified polymorphic DNA to evaluate the genetic variability of Ponkan mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) accessions. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.23, n.1, p.169-172, 2000.

COLOMBO, C.; SECOND, G.; CHARRIER, A. Diversity within American cassava germ plasm based on RAPD markets. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.23, n.1, p.189-199, 2000.

COLOMBO, C. et al. Genetic diversity characterization of cassava cultivars (*Manihot esculenta* Crantz). I) RAPD markets. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.21, n.1, p.105-113, 1998.

CHEW, P. C. et al. DNA polymorphism in accessions of *Nephelium lappaceum* L. In: RAO, V. R.; BROWN, A. H. D.; JACKSON, M. T. (Ed.). **Managing plant genetic diversity**. Roma: IPGRI, 2002. p.57-60, 2002.

CRUZ, C. D. **Programa Genes**: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 1997. 442p.

CRUZ, C. D. **Programa Genes**: aplicativo computacional em genética e estatística. Versão 2003.0.0. Viçosa: UFV, 2003. CD-ROM.

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

DUDLEY, J. W. Comparison of genetic distance estimators using molecular marker data. In: _____. **Analysis of molecular marker data**. Corvallis: Oregon, 1994. p.3-7.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Ocidental. **Boletim agrometeorológico**. Manaus: 1998a. 23 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Ocidental. **Sistema de produção para guaraná**. Manaus: 1998b. 34p. (Documentos, 13).

FONSECA, A. F. A. da. **Análises biométricas em café conillon (*Coffea canephora* Pierre)**. 1999. 121p. Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 13.ed. Piracicaba: Nobel, 1990. 468p.

GARCIA, T.B. et al. **Coleta de germoplasma clonal de guaraná**. Manaus: Embrapa-CPPA, 1991. 7p. (Pesquisa em Andamento, 7).

HAGIWARA, W. E.; SANTOS, J. B. dos; CARMO, S. L. M. do. Use of RAPD to aid selection in common bean backcross breeding programs. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.1, n.4, p.335-362, 2001.

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

MOURÃO JR. M. **Avaliação de um critério probabilístico em análise multivariada de agrupamento (*cluster analysis*), por meio de simulação Monte Carlo** 2001. 79p. Dissertação (Estatística Aplicada em Genética e Melhoramento de Plantas)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

NASCIMENTO FILHO, F.J. do. **Interação genótipos x ambientes, adaptabilidade, estabilidade e repetibilidade em clones de guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke)**. 2003. 182 p. Tese (Genética e Melhoramento)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

NASCIMENTO FILHO, F.J. do; ATROCH, A.L. Guaranazeiro. In: BRUCKNER, C.H. (Ed.). **Melhoramento de fruteiras tropicais**. Viçosa, MG: UFV, 2002. p.291-307.

NASCIMENTO FILHO, F.J. do; ATROCH, A.L.; CRAVO, M. da S. **Melhoramento genético do guaranazeiro**: resultados de ensaios de avaliação de clones – fase produtiva 1985 a 1994. Manaus: EMBRAPA Amazônia Ocidental, 2000. 54p. (Boletim de Pesquisa, 7).

NASCIMENTO FILHO, F. J. do. et al. Divergência genética entre clones de guaranazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.3, p.501-506, 2001.

NIENHUIS, J. et al. Genetic relationships among cultivars and lines of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as measured by RAPD markers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.120, p.300-306, 1995.

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

RESENDE, M. D. V. de. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2002. 975p.

ROHLF, F. J. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system**. New York, 1992. 470p.

SALLA, M. F. S. et al. Uso de marcadores moleculares na análise da variabilidade genética em acerola (*Malpighia emarginata* D. C.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 15-22, 2002.

SAS Institute. **Statistical Analysis System**, 2000.

SAWAZAKI, H. E.; BARBOSA, W.; COLOMBO, C. A. Caracterização e identificação de cultivares e seleção de pereiras através de marcadores rapd. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.2, p.447-452, 2002

SILVA, E.A. **A influência do clima na produção de clones de guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) no município de Manaus, Amazonas**. 2001. 77p. Tese (Doutorado em Agronomia)-Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu-SP.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **The Indian Journal of Genetic and Plant Breeding**, v.41, n.1, p.237-245, 1981.

STEINER, J. J.; De Los SANTOS, G. G. Adaptive ecology of *Lotus corniculatus* L. genotypes: I. Plant morphology and RAPD marker characterization. **Crop Science**, Madison, v.41, n.2, p.552-563, 2001.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H.; DICKEY, D. A. **Principles of statistics a biometrical approach**. 3.ed. Boston: The McGraw-Hill, 1997. 666p. (McGraw-Hill Series in Probability and Statistics).

SOUSA, N. R. et al. Discriminação de raças primitivas de pupunha (*Bactris gasipaes*) na Amazônia brasileira por meio de marcadores moleculares (RAPD). **Acta Amazônica**, v.31, n.4, p.539-545, 2001.

TROYER, A. F.; ROCHEFORD, T. R. Germplasm ownership: related corn inbreds. **Crop Science**, v.42, p.3-9, 2002.

CAPÍTULO II

ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS G ENÉTICOS EM CARACTERES DE FRUTOS DE GUARANAZEIRO

RESUMO

SOUSA, Nelcimar Reis. Estimativas de parâmetros genéticos em caracteres de frutos de guaranazeiro. In: _____. **Variabilidade genética e estimativas de parâmetros genéticos em germoplasma de guaranazeiro** 2003. Cap.1. p.68-87. Tese (Doutorado em Agronomia/Genética e Melhoramentos de Plantas)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

O guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) é uma fruteira com sementes ricas em cafeína. Seu melhoramento ainda é recente, portanto, há pouca informação genética sobre a maioria dos caracteres. O objetivo do trabalho foi estimar parâmetros genéticos para sete caracteres de frutos de guaraná avaliados em 27 clones elites do programa de melhoramento, em duas safras consecutivas. O delineamento foi o de blocos casualizados com duas repetições e três plantas por parcela. Em cada planta foram amostrados quatro cachos com frutos maduros, nos quais foram efetuadas as coletas de dados. Foram estimadas variâncias, índices de variação ($\hat{C}V_g/\hat{C}V_e$) coeficientes de herdabilidade, ganhos com a seleção e correlações entre caracteres. Os coeficientes de variação situaram-se numa faixa aceitável de precisão (3,538% e 17,953%). A diferença entre clones foi significativa para todas as características e o efeito de safra foi significativo apenas para peso médio de cacho, peso total de frutos por cacho e peso médio de fruto. A interação clone x safra foi não significativa somente para peso total de frutos por cacho. Os mesmos caracteres que apresentaram $\hat{C}V_g/\hat{C}V_e$ maior que a unidade também apresentaram valores mais altos para herdabilidade: peso médio de fruto (0,852) e diâmetro longitudinal da semente (0,901). As correlações fenotípicas mais elevadas indicaram que seleções para cachos mais pesados resultarão em maior peso total de frutos por cacho, assim como a seleção para frutos com maior peso médio de fruto proporcionará acréscimo no peso médio da semente e no tamanho longitudinal da semente. A seleção de quaisquer caracteres de fruto não afetará o teor de cafeína na semente seca. A razoável herdabilidade do caráter número total de frutos normais por cacho (0,671) e sua correlação fenotípica positiva com peso médio de cacho (0,475**) apontam a importância desses dois caracteres como componentes de produção. Os resultados evidenciaram a existência de variabilidade genética para caracteres de frutos de guaraná, que pode ser explorada tanto no programa de seleção como na avaliação de germoplasma.

*Comitê de orientação: Prof. Dr. João Bosco dos Santos (Orientador)

ABSTRACT

SOUSA, Nelcimar Reis. Estimates of genetic parameters in fruit characters from guarana tree. In: _____. **Genetic variability and estimation of genetic parameters in guarana tree germplasm** 2003. Cap.1. p.68-87. Thesis (Doctor in Agronomy / Genetics and Plant Breeding)-Universidade Federal de Lavras, Lavras*.

Guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) is a fruit tree whose seeds are rich in caffeine. Its breeding is still recent, as a consequence there is little genetic information available on most of the characters. The aim of this study was to estimate genetic parameters for seven characters of guarana fruits assessed in 27 elite clones from the breeding program, during two consecutive seasons. The experimental design consisted of two randomized blocks with two replications and three plants per plot. Four fruit bunches containing riped fruits were sampled from each plant to collect the data. It was estimated the variances, ratio between $\hat{C}V_g/\hat{C}V_e$, heritability coefficients, genetic gains from selection and correlations among the characters. The coefficients of variation were situated on an acceptable range of precision (3.538% and 17.953%). Differences among clones were significant for all characteristics, and the seasons effect, were significant for the bunch average weight, total weight of fruits per bunch and average fruit weight. The interaction clone x season was not significant just for the total weight of fruits per bunch. The same characters which presented $\hat{C}V_g/\hat{C}V_e$ higher than unit also presented high values for heritability: average fruit weight (0.852) and seed longitudinal diameter (0.901). High phenotypic correlation indicated that selections for heavier bunches will result in higher total weight of fruits per bunch, in the same manner, selection for fruits whose weight is higher than average will provide an increase in both seed average weight and its longitudinal size. Selection for any fruit character will not affect the caffeine content in the dry seeds. Heritability for total number of normal fruits per bunch (0.671) and its positive phenotypic correlation to bunch average weight (0.475**) indicates the importance of these two characters as yield components. The results stressed the genetic variability for characters of guarana fruit, which might be studied further both on the selection program and on germplasm assessment.

*Comitê de orientação: Prof. Dr. João Bosco dos Santos (Orientador)

1 INTRODUÇÃO

O guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) é uma fruteira apropriada para a exploração agroindustrial, visto que suas sementes são ricas em cafeína. Plantios racionais agregam valores para produtores, diretamente pela elaboração de produtos naturais, como o pó de guaraná usado no preparo de bebidas energéticas ou indiretamente como fonte de matéria-prima para aproveitamento da cafeína natural na industrialização de produtos medicinais e refrigerantes.

A cultura do guaraná é genuinamente brasileira, sendo o município de Maués, no estado do Amazonas, o principal produtor com 80% da produção estadual. Na última década, a demanda crescente por produtos naturais estimulou a expansão da cultura fora da região amazônica, como nos estados da Bahia e Mato Grosso (Nascimento Filho & Atroch, 2002).

A Embrapa Amazônia Ocidental tem concentrado esforços para reunir variabilidade genética em coleção de clones, visando sua exploração no melhoramento da espécie. A coleção constitui a principal reserva de alelos para busca de soluções tecnológicas para os problemas que vêm comprometendo a sustentabilidade da cultura e sua opção como agronegócio, especialmente baixa produtividade e ocorrência de pragas e doenças.

Os esforços iniciais de pesquisa resultaram na seleção de clones com elevado potencial produtivo e tolerância à principal doença, a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum guaranicola*. A utilização mais intensiva do germoplasma clonal para obter avanços contínuos no melhoramento da espécie exige um maior conhecimento da variabilidade genética dos caracteres diretamente envolvidos na produção, como cachos, frutos e sementes.

Na espécie pode existir variabilidade genética suficiente para vários caracteres nas populações, o que permite a seleção de indivíduos superiores com

maior número de atributos desejáveis, para uso direto pelos produtores ou para uso nos programas de melhoramento genético. O ganho genético com a seleção deve ser obtido por métodos de melhoramento apropriados, que aumentem a produção sem estreitamento muito grande da base genética, como a seleção recorrente (Nascimento Filho & Atroch, 2002).

O melhoramento da espécie ainda é recente, portanto, há pouca informação genética sobre a maioria dos caracteres. Por isso, estudos complementares sobre a variabilidade da espécie oferecem a oportunidade de orientar os programas de melhoramento e principalmente, avaliar as possibilidades de se obter ganhos com a seleção ou acrescentar novos caracteres na avaliação de germoplasma. O objetivo do trabalho foi estimar parâmetros genéticos para sete caracteres de frutos avaliados em clones elite de guaraná.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material e delineamento experimental

Os dados foram coletados em um experimento de competição de clones conduzido na Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, Amazonas. O clima, segundo a classificação de Köppen, pertence ao grupo tropical chuvoso tipo Af_i, com temperatura média do mês mais frio, superior a 18°C e precipitação superior a 60mm no mês mais seco (Embrapa, 1998a).

O experimento foi implantado em 1996. O solo é de capoeira, classificado como Latossolo amarelo, textura muito pesada e baixa fertilidade natural. Os tratos culturais seguiram as recomendações técnicas do sistema de produção de guaraná (Embrapa, 1998b).

Foram avaliados 27 clones elite de guaraná (Tabela 1). O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, com duas repetições. Cada parcela é formada por três plantas, no espaçamento 5m entre linhas e 5m entre plantas. Os dados foram coletados por parcela, sendo amostrados em cada planta, quatro cachos maduros, nos quais foram efetuadas as medições.

TABELA 1 Identificação dos clones de guaranazeiro avaliados.

Identificação dos clones ¹						
CIR217	CMA225	CMU300	CMU605	CMU611	CMU624	CMU862
CMA222	CMA227	CMU375	CMU607	CMU612	CMU626	CMU871
CMA223	CMA228	CMU388	CMU609	CMU613	CMU631	CMU882
CMA224	CMA274	CMU601	CMU610	CMU619	CMU861	-

¹ CIR (clone de Iranduba) CMA (clone de Manaus) CMU (clone de Maués)

2.2 Caracteres avaliados

Sete caracteres relacionados com a fase produtiva do guaraná foram avaliados em duas safras consecutivas, 2000 e 2001:

- peso médio de cacho (g);
- peso total de frutos normais por cacho (g);
- número total de frutos normais por cacho;
- peso médio de fruto – determinado pela razão entre peso total de frutos e o número total de frutos por cacho (g);
- peso médio de semente (g) – determinado pela média dos pesos individuais de 20 sementes frescas com arilo, em balança de precisão.
- diâmetro longitudinal da semente (mm) – determinado pela média das medidas individuais de 20 sementes globosas, utilizando paquímetro digital.
- diâmetro transversal da semente (mm) – determinado pela média das medidas individuais de 20 sementes globosas, utilizando paquímetro digital.

Além destes, a média de duas determinações anuais do teor de cafeína na semente seca foi incluída apenas nos estudos de correlações.

2.3 Análise de dados

2.3.1 Análise de variância

As análises de variâncias para a média de cada caráter foram realizadas com base no modelo para o esquema de fatorial simples:

$$Y_{ijk} = m + c_i + b_j + s_k + (cs)_{ik} + e_{ijk}$$

em que,

Y_{ijk} : é a observação associada ao i -ésimo clone do j -ésimo bloco na k -ésima safra;

m : é a média geral;

c_i : efeito aleatório do i -ésimo clone;

b_j : efeito do j -ésimo bloco;

s_k : efeito fixo da k -ésima safra;

$(cs)_{ik}$: efeito da interação do clone i com a safra k ,

e_{ijk} : erro experimental, assumindo que os erros são independentes com distribuição normal $N(0, \sigma^2)$.

O esquema da análise de variância e as esperanças dos quadrados médios são apresentados na Tabela 2.

TABELA 2 – Esquema da análise de variância e esperanças dos quadrados médios [E(QM)].

FV	GL	QM	E(QM)
Blocos	(b-1)	Q_1	$\sigma_e^2 + IK \sigma_b^2$
Clones	(c-1)	Q_2	$\sigma_e^2 + JK \sigma_c^2$
Safras	(s-1)	Q_3	$\sigma_e^2 + J \left(\frac{K}{K-1} \right) \sigma_{cs}^2 + IJ \Phi_s$
Clone x Safra	(c-1)(s-1)	Q_4	$\sigma_e^2 + J \left(\frac{K}{K-1} \right) \sigma_{cs}^2$
Erro	(b-1)(cs-1)	Q_5	σ_e^2

2.3.2 Estimação de parâmetros genéticos

Os componentes de variância genética (σ_g^2), fenotípica (σ_f^2) e ambiental (σ_e^2) foram estimados a partir das esperanças dos quadrados médios (Tabela 2):

$$\hat{\sigma}_g^2 = \frac{(Q_2 - Q_5)}{JK} \quad \hat{\sigma}_f^2 = \frac{Q_2}{JK} \quad \hat{\sigma}_e^2 = Q_5$$

As estimativas das variâncias foram utilizadas para estimar os coeficientes de variação genética (\hat{CV}_g), fenotípico (\hat{CV}_f) e ambiental (\hat{CV}_e). Além dos parâmetros genéticos índice de variação (b) e coeficiente de herdabilidade no sentido amplo (h^2).

$$\hat{CV}_g = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_g^2}}{X} \cdot 100 \quad \hat{CV}_f = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_f^2}}{X} \cdot 100 \quad \hat{CV}_e = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_e^2}}{X} \cdot 100$$

$$b = \frac{\hat{CV}_g}{\hat{CV}_e} \quad h^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_f^2}$$

Os limites, inferior (LI) e superior (LS), das estimativas por intervalo para a herdabilidade foram determinados pelas expressões propostas por Knapp et al. (1985), considerou-se a probabilidade de $1-\alpha=0,95$.

$$LI = \left\{ 1 - \left[\left(\frac{QMclone}{QMerroa} \right) F_{1-\frac{\alpha}{2}; GLerro, GLclone} \right]^{-1} \right\} \quad LS = \left\{ 1 - \left[\left(\frac{QMclone}{QMerroa} \right) F_{\frac{\alpha}{2}; GLerro, GLclone} \right]^{-1} \right\}$$

Os coeficientes de herdabilidade foram empregados para estimar o ganho esperado com a seleção de 20% de clones superiores, cerca de cinco indivíduos. A expressão utilizada foi de acordo com Cruz & Carneiro (2003).

$$GS(\%) = \frac{h^2 DS}{\bar{X}} \cdot 100$$

em que,

$$DS = \bar{X}_s - \bar{X}_o$$

\bar{X}_s : média da população selecionada;

\bar{X}_o : média da população original;

Os coeficientes de correlação fenotípica (r_f), genética (r_g) e ambiental (r_e) entre os caracteres foram estimados com emprego das seguintes expressões:

$$r_f = \frac{COV_f(x, y)}{\sqrt{\sigma^2_f(x) \cdot \sigma^2_f(y)}} \quad r_g = \frac{COV_g(x, y)}{\sqrt{\sigma^2_g(x) \cdot \sigma^2_g(y)}} \quad r_e = \frac{COV_e(x, y)}{\sqrt{\sigma^2_e(x) \cdot \sigma^2_e(y)}}$$

Os níveis de significância das correlações fenotípicas foram obtidos pela aplicação do teste t (Steel et al., 1997).

Os dados foram analisados com o emprego do aplicativo GENES (Cruz, 2003).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise de variância

O resumo da análise de variância para as sete características avaliadas é apresentada na Tabela 3. Os coeficientes de variação (CV_e) situaram-se numa faixa aceitável de precisão, entre 3,538% para diâmetro longitudinal da semente (DLS) a 17,953% para peso total de frutos normais por cacho (PTFC).

A diferença entre clones foi significativa para quase todas as características a 1% de probabilidade, exceto para peso médio de cacho e peso total de frutos normais por cacho que foram significativos a 5% de probabilidade. Este resultado constata a existência de variação entre os clones para os caracteres avaliados e sugere que a seleção poderá ser bem sucedida.

TABELA 3 Resumo da análise de variância entre 27 clones de guaraná avaliados para peso médio de cacho (PMC), peso total de frutos normais por cacho (PTFC), número total de frutos normais por cacho (NTFC), peso médio de fruto (PMF), peso médio de semente (PMS), diâmetro longitudinal da semente (DLS) e diâmetro transversal da semente (DTS).

FV	GL	Quadrados médios						
		PMC	PTFC	NTFC ¹	PMF	PMS	DLS	DTS
Blocos	1	56,002	104,155	0,121	0,154	0,014	0,000	0,060
Clones (C)	26	570,265*	487,208*	0,583**	1,703**	0,133**	1,527**	0,831**
Safras (S)	1	7850,843**	4174,119**	0,460	7,949*	0,165	0,023	0,005
C x S	26	549,936*	408,188	0,450**	1,484**	0,091**	0,772**	0,553**
Erro	53	289,501	254,768	0,193	0,250	0,028	0,151	0,226
Média		98,190	88,907	22,648	3,959	1,355	10,985	11,893
CV_e (%)		17,328	17,953	9,129	12,623	12,251	3,538	3,998

¹Dados transformados $\sqrt{x+0,5}$

* e ** Diferença significativa para $P<0,05$ e $P<0,01$, respectivamente

O efeito de safra foi significativo a 1% de probabilidade para peso médio de cacho e peso total de frutos normais por cacho, enquanto que o peso médio de fruto foi significativo apenas a 5%. Isso reflete que estes três caracteres foram os mais influenciados por flutuações ambientais dos anos correspondentes às safras avaliadas. A interação entre clone x safra foi não significativa somente para peso total de frutos normais por cacho.

A influência do componente ambiental ano e da interação clone x ano na produção de frutos de guaraná vem sendo observada na maioria dos ensaios de avaliação de clones (Nascimento Filho et al., 2000), isto implica que ocorre tanto variação entre anos como no comportamento dos clones de um ano para outro.

Geralmente, o aumento do número de anos e/ou locais para a avaliação de caracteres relacionados com a produção torna o processo de seleção mais eficiente, principalmente em espécies perenes, nas quais a expressão do caráter também pode ter influência da idade da planta.

3.2 Parâmetros genéticos

Em geral, as estimativas de herdabilidade indicaram elevadas chances de sucesso com métodos simples de seleção e também sugerem a possibilidade de escolha de genitores contrastantes para quase todos caracteres (Tabela 4).

Dentre os coeficientes de herdabilidade, somente dois apresentaram valores mais baixos, correspondentes a peso total de frutos por cacho (0,477) e peso médio de cacho (0,492). Os valores mais elevados foram obtidos para os caracteres diâmetro longitudinal da semente (0,901) e peso médio de fruto (0,852), indicando a potencialidade desses dois caracteres serem utilizados como descritores na caracterização de clones.

TABELA 4 Estimativas de parâmetros genéticos entre 27 clones de guaraná avaliados para peso médio de cacho (PMC), peso total de frutos normais por cacho (PTFC), número total de frutos normais por cacho (NTFC), peso médio de fruto (PMF), peso médio de semente (PMS), diâmetro longitudinal da semente (DLS) e diâmetro transversal da semente (DTS).

Parâmetros	Caracteres						
	PMC	PTFC	NTFC	PMF	PMS	DLS	DTS
σ_g^2	70,191	58,110	0,098	0,363	0,026	0,344	0,151
σ_f^2	142,566	121,802	0,146	0,426	0,033	0,382	0,208
h^2	0,492	0,477	0,671	0,852	0,788	0,901	0,726
$LI(h^2)$	- 0,114	- 0,147	0,275	0,678	0,547	0,783	0,403
$LS(h^2)$	0,769	0,762	0,849	0,933	0,906	0,955	0,876
$GS(\%)$	7,320	7,066	7,149	20,631	13,836	6,594	4,010
b	0,492	0,478	0,712	1,206	0,900	1,509	0,818
$CV_g(\%)$	8,532	8,574	6,495	15,229	12,006	5,339	3,269
$CV_f(\%)$	12,160	12,413	7,942	16,486	13,407	5,626	3,835
$CV_e(\%)$	17,328	17,953	9,129	12,623	12,251	3,538	3,998

O coeficiente de herdabilidade para peso médio de cacho (0,492) foi inferior ao de determinação genotípica (0,97) encontrado por Corrêa (1989). Por outro lado, para número total de frutos (0,671) a estimativa ficou entre 0,26 obtida por Valois et al. (1979) e mais próxima de 0,85, encontrada por Corrêa (1989). A falta de coincidência entre valores de herdabilidade para o mesmo caráter é explicada por Falconer & Mackay (1996), como resultado de alterações em qualquer um dos componentes de variâncias envolvidos na estimativa. Isso implica que os valores de herdabilidade representam particularidades genéticas de uma população e das condições experimentais do estudo.

Os limites de confiança da herdabilidade foram positivos para a maioria dos caracteres, indicando a precisão das estimativas (Tabela 4). Os caracteres com as menores estimativas de herdabilidade, peso médio de cacho e peso total

de frutos foram os únicos que apresentaram os limites inferiores negativos, evidenciando maior influência da variação ambiental sobre estes dois caracteres.

Os índices de variação, razão entre \hat{CV}_g e \hat{CV}_e , foram menores para peso total de frutos normais por cacho (0,478) e peso médio de cacho (0,492), enquanto os maiores foram para diâmetro longitudinal da semente (1,509) e peso médio de fruto (1,206). O índice de variação para peso médio de cacho (0,492) foi inferior ao valor (0,76) obtido por Corrêa (1989); em contrapartida, o índice de variação para número de frutos por cacho (0,712) foi bem superior ao valor apresentado pelo mesmo autor (0,47).

Adicionalmente, os mesmos caracteres que apresentaram índice de variação maior que a unidade também apresentaram valores mais altos para herdabilidade, o que reforça a possibilidade de ganhos genéticos na seleção de clones com frutos mais pesados e sementes com maior dimensão longitudinal. Para Vencovsky (1987), índice de variação superior à unidade indica uma situação favorável para seleção.

Os extremos dos coeficientes de variação genética e fenotípica ocorreram para os mesmos caracteres, respectivamente, diâmetro transversal da semente ($\hat{CV}_g=3,269$ e $\hat{CV}_f=3,835$) e peso médio de fruto ($\hat{CV}_g=15,229$ e $\hat{CV}_f=16,486$). Coeficientes de variação genética elevados são indicativos de que a seleção pode ser efetiva.

Os ganhos genéticos percentuais mais elevados foram para peso médio de fruto (20,631%) e peso médio de semente (13,836%). Estas estimativas refletem os resultados satisfatórios dos demais parâmetros genéticos estimados para essas duas características, porém vale acrescentar que, em princípio, esses poderão ser mais úteis na caracterização e identificação de clones que em um programa de seleção. Por outro lado, os ganhos com a seleção direta em peso

médio de cacho, peso total de frutos por cacho ou número total de frutos por cacho foram aproximadamente iguais.

A maioria das correlações foi inferior a 0,500; mesmo assim, aquelas com coeficientes acima de 0,380 apresentaram algum nível de significância. Não houve correlação fenotípica entre teor de cafeína e os demais caracteres, o que denota que a seleção contínua para caracteres de fruto não afetará o conteúdo de cafeína na semente seca (Tabela 5).

Correlações fenotípicas, positivas e significativas a 1% de probabilidade, foram observadas para as associações entre peso médio de cacho com peso total de frutos normais, número total de frutos normais por cacho e diâmetro transversal da semente; peso total de frutos com número total de frutos normais por cacho e diâmetro transversal da semente; e peso médio de fruto com peso médio de semente e diâmetro longitudinal da semente. As positivas e significativas a 5% de probabilidade foram restritas às associações entre diâmetro longitudinal de semente com peso médio de semente e diâmetro transversal de semente.

Correlações positivas e significativas são desejáveis por indicar que a seleção de um caráter proporcionará acréscimo no outro, visto que, de acordo com Falconer & Mackay (1996), caracteres correlacionados são controlados pelos mesmos genes ou genes ligados. Considerando as correlações genéticas mais elevadas, pode-se prever que seleções para cachos mais pesados resultarão em maior peso total de frutos por cacho ($r_g = 0,987$), assim como a seleção para frutos com maior peso médio proporcionará acréscimo no peso médio da semente ($r_g = 0,815$) e no diâmetro longitudinal da semente ($r_g = 0,647$).

A associação fenotípica positiva entre peso médio de cacho e número total de frutos por cacho ($r_f = 0,475$) também foi verificada por Corrêa (1986), no nível de significância de 5% de probabilidade em progênies de polinização

aberta ($r_f=0,76$) e superior ao encontrado no presente estudo em população clonal ($r_f=0,67$). Acrescenta-se ainda que o número total de frutos normais por cacho também apresentou correlação negativa e significativa a 1% com peso médio de fruto ($r_f = -0,690$) e peso médio de semente a 5% de probabilidade ($r_f = -0,455$), o que implica que número elevado de frutos por cacho proporcionará uma redução nos pesos médios de frutos e sementes. Embora em direções opostas, essas associações sugerem que o número total de frutos normais por cacho pode ser um componente de produção importante para ser empregado na avaliação preliminar de clones ou na construção de índices de seleção, principalmente ao se considerar que peso total de cachos é o dado de referência para seleção de clones produtivos.

Nota-se que as magnitudes das correlações genéticas foram semelhantes às das correlações fenotípicas, o que sugere que a significância das correlações fenotípicas deveu-se principalmente às causas genéticas. Em geral, as magnitudes das correlações ambientais corresponderam às das fenotípicas e genéticas. Para Ramalho et al. (2000), se a estimativa de correlação ambiental é alta e positiva, os dois caracteres são influenciados pela variação ambiental na mesma direção; se for alta e negativa, são influenciados em direção contrária.

Os razoáveis coeficientes de herdabilidade para número total de frutos normais por cacho (0,671) e da correlação genética com peso total de frutos normais por cacho (0,360) sugerem que a resposta correlacionada possa ser uma estratégia para a seleção de clones com elevada produção de frutos. Em razão disso, efetuou-se a predição do ganho indireto quando a seleção for praticada em número de frutos normais por cacho (NTFC). Assim, considerando a seleção de cinco clones superiores ($i=1,445$) foram estimados os ganhos indiretos em peso total de frutos normais por cacho (PTFC), com base no produto entre a intensidade de seleção, correlação genética entre NTFC e PTFC e os desvios da

herdabilidade de NTFC e da variância genética de PTFC
[$GI(\%) = (i \cdot h_{(NTFC)} \cdot r_g \cdot \hat{\sigma}_{g(PTFC)}) / \overline{X}_{(PTFC)} \cdot 100]$.

O ganho indireto estimado para PTFC foi de 3,649%. Comparando este valor com o de ganho direto para PTFC (7,066%), exposto na Tabela 4, percebe-se que o ganho indireto foi aproximadamente reduzido a metade. Provavelmente esse resultado é consequência dos valores baixos da variância genética de PTFC e da correlação genética entre os dois caracteres (Tabelas 3 e 4). Nesse sentido, Falconer & Mackay (1996) comentam que a seleção indireta proporcionaria ganhos superiores aos da seleção direta quando o produto entre a herdabilidade do caráter auxiliar e a correlação genética for superior ao do caráter principal. Diante disso, a seleção direta para peso total de frutos normais por cacho será mais efetiva que a seleção indireta para número total de frutos normais por cacho.

Convém salientar que, quando a seleção for praticada em NTFC os ganhos indiretos serão negativos para peso médio de fruto (-14,731) e peso médio da semente (-9,342) devido às correlações genéticas entre NTFC e estes dois caracteres serem altas e negativas ($r_{NTFC \times PMF} = -0,818$ e $r_{NTFC \times PMS} = -0,658$). Assim, as correlações elevadas e significativas envolvendo número de frutos normais por cacho são informações valiosas que podem ser consideradas na decisão de coleta de dados e na seleção de clones produtivos para compor um programa de cruzamento.

TABELA 5 Coeficientes de correlação fenotípica (r_f), genética (r_g) e ambiental (r_e) entre peso médio de cacho (PMC), peso total de frutos normais por cacho (PTFC), número total de frutos normais por cacho (NTFC), peso médio de fruto (PMF), peso médio de semente (PMS), diâmetro longitudinal da semente (DLS) e diâmetro transversal da semente (DTS) e teor de cafeína em 100g de pó de sementes secas.

Caracteres	r	PTFC	NTFC	PMF	PMS	DLS	DTS	TCAF ¹
PMC	r_f	0,982**	0,475**	0,242	0,317	0,264	0,529**	- 0,100
	r_g	0,987	0,327	0,267	0,322	0,316	0,767	-
	r_e	0,978	0,700	0,253	0,359	0,238	0,188	-
PTFC	r_f		0,500**	0,230	0,287	0,236	0,496**	- 0,169
	r_g		0,360	0,243	0,288	0,271	0,693	-
	r_e		0,712	0,270	0,336	0,258	0,232	-
NTFC	r_f			- 0,690**	- 0,455*	- 0,306	0,053	- 0,135
	r_g			- 0,818	- 0,658	- 0,387	0,079	-
	r_e			- 0,326	0,095	- 0,030	- 0,007	-
PMF	r_f				0,722**	0,606**	0,333	0,104
	r_g				0,815	0,647	0,363	-
	r_e				0,296	0,323	0,238	-
PMS	r_f					0,423*	0,365	- 0,026
	r_g					0,436	0,383	-
	r_e					0,380	0,314	-
DLS	r_f						0,468*	0,194
	r_g						0,445	-
	r_e						0,653	-
DTS	r_f							0,032

* e ** Significativo pelo teste t $P < 0,05$ e a $P < 0,01$, respectivamente.

¹ Média de duas safras

4 CONCLUSÕES

Existe ampla variabilidade genética para caracteres de frutos de guaraná, que pode ser explorada tanto no programa de seleção como na avaliação preliminar de germoplasma.

A razoável herdabilidade do caráter número médio de frutos normais e suas correlações fenotípicas, positiva com peso médio de cacho e negativa com pesos médios de fruto e semente, apontam para sua importância como componente de produção. Juntamente com peso médio de cacho, constituem importantes caracteres para serem avaliados em programa de melhoramento.

Os caracteres peso médio de fruto, diâmetro longitudinal da semente e peso médio de semente podem ser aproveitados na caracterização e identificação de clones em função das elevadas estimativas dos parâmetros genéticos avaliados.

A seleção contínua de quaisquer caracteres de fruto não afetará o teor de cafeína na semente seca.

A seleção para peso médio de cacho, peso total de frutos por cacho ou número total de frutos por cacho proporcionará ganhos genéticos aproximadamente iguais.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CORRÊA, M. P. F. **Caracteres quantitativos e qualitativos para descrição morfológica do guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke)** 1989. 186.p. Tese (Doutorado em Botânica)-Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas.

CRUZ, C. D. **Programa Genes**: aplicativo computacional em genética e estatística. Versão 2003.0.0. UFV. 2003.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2003. v.2, 585p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Ocidental. **Boletim agrometeorológico**. Manaus: 1998a. 23 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Ocidental. **Sistema de produção para guaraná**. Manaus: 1998b. 34p. (Documentos, 13).

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. 4.ed. Malaysia: Longman, 1996. 464p.

KNAPP, S. J.; STROUP, W. W.; ROSS, W. M. Exact confidence intervals for heritability on a progeny mean basis. **Crop Science**, v.25, n.1, p.192-194, 1985.

NASCIMENTO FILHO, F.J. do; ATROCH, A.L. Guaranazeiro. In: BRUCKNER, C.H. (Ed.). **Melhoramento de fruteiras tropicais**. Viçosa, MG: UFV, 2002. p.291-307

NASCIMENTO FILHO, F.J.; ATROCH, A. L.; CRAVO, M. da S. **Melhoramento genético do guaranazeiro**: resultados de ensaios de avaliação de clones fase produtiva 1985 a 1994. Manaus: EMBRAPA Amazônia Ocidental, 2000. 54 p (Boletim de Pesquisa, 7).

RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F.; OLIVEIRA, A. C. de. **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. Lavras: UFLA, 2000. 303p.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. DICKEY, D. A. **Principles of statistics a biometrical approach**. 3.ed. Boston: The McGraw-Hill, 1997. 666p. (McGraw-Hill Series in Probability and Statistics).

VALOIS, A.C.C.; CORRÊA, M.P.F.; VASCONCELOS, M.E.C. Estudos de caracteres correlacionados com a produção de amêndoa seca no guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 14, n.2, p.175-179, 1979.

VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G.P. (Ed.). **Melhoramento e produção de milho**. 2.ed.rev. Campinas: Fundação Cargil, 1987. p.137-214.

ANEXOS

TABELA 1A Matriz de similaridade genética entre 75 clones da coleção de germoplasma de guaraná.....	89
TABELA 2A Matriz das distâncias generalizada de Mahalanobis D^2 entre 27 clones utilizados no melhoramento de guaraná.....	97
TABELA 3A Resumo da análise de variância entre grupos formados pelo Método de Tocher com base na estimativa de distância D^2	99

TABELA 1A Matriz de similaridade genética entre 75 clones da coleção de germoplasma de guaraná.

Nº	Clones	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	CMU174	1												
2	CMA189	0,64	1											
3	CMA190	0,59	0,67	1										
4	CMA191	0,67	0,73	0,66	1									
5	CIR199	0,61	0,68	0,74	0,69	1								
6	CIR209	0,60	0,60	0,60	0,62	0,61	1							
7	CIR217	0,67	0,68	0,62	0,63	0,61	0,56	1						
8	CMA222	0,60	0,61	0,61	0,60	0,63	0,63	0,64	1					
9	CMA223	0,64	0,66	0,62	0,64	0,61	0,57	0,67	0,70	1				
10	CMA224	0,61	0,64	0,60	0,60	0,61	0,63	0,67	0,64	0,64	1			
11	CMA225	0,63	0,70	0,61	0,64	0,60	0,61	0,70	0,62	0,66	0,66	1		
12	CMA227	0,60	0,61	0,63	0,59	0,54	0,55	0,62	0,66	0,68	0,59	0,60	1	
13	CMA242	0,67	0,74	0,65	0,66	0,64	0,64	0,68	0,63	0,67	0,60	0,68	0,58	1
14	CMA243	0,68	0,72	0,72	0,76	0,68	0,67	0,71	0,64	0,66	0,69	0,68	0,62	0,70
15	CMA274	0,59	0,64	0,62	0,64	0,63	0,60	0,68	0,62	0,61	0,64	0,66	0,58	0,67
16	CMA276	0,66	0,67	0,60	0,66	0,61	0,59	0,70	0,70	0,71	0,66	0,72	0,65	0,66
17	CMU300	0,64	0,70	0,54	0,64	0,59	0,59	0,61	0,62	0,68	0,60	0,71	0,60	0,64
18	CMA314	0,61	0,65	0,71	0,70	0,67	0,60	0,63	0,63	0,64	0,65	0,67	0,61	0,61
19	CMA347	0,66	0,70	0,63	0,64	0,63	0,61	0,64	0,58	0,59	0,60	0,57	0,55	0,68
20	CMA348	0,63	0,65	0,64	0,67	0,60	0,64	0,62	0,61	0,63	0,62	0,64	0,56	0,60
21	CMA352	0,67	0,75	0,68	0,75	0,67	0,64	0,69	0,69	0,70	0,73	0,69	0,66	0,69
22	CMA370	0,59	0,69	0,70	0,68	0,65	0,61	0,65	0,63	0,64	0,59	0,60	0,64	0,69
23	CMA372	0,63	0,66	0,59	0,64	0,61	0,62	0,63	0,62	0,67	0,65	0,58	0,56	0,68
24	CMU375	0,56	0,67	0,61	0,69	0,63	0,58	0,64	0,70	0,69	0,61	0,68	0,67	0,69
25	CMU376	0,58	0,60	0,62	0,69	0,60	0,60	0,61	0,57	0,58	0,57	0,59	0,56	0,68
26	CMU381	0,67	0,70	0,59	0,69	0,61	0,67	0,71	0,67	0,63	0,67	0,76	0,63	0,67
27	CMU385	0,63	0,68	0,62	0,65	0,71	0,65	0,64	0,65	0,66	0,64	0,65	0,64	0,73
28	CMU388	0,59	0,68	0,65	0,65	0,60	0,63	0,67	0,67	0,68	0,67	0,72	0,62	0,68
29	CMU389	0,63	0,69	0,62	0,64	0,58	0,64	0,71	0,63	0,71	0,72	0,73	0,63	0,72
30	CMA426	0,62	0,71	0,66	0,62	0,65	0,62	0,60	0,63	0,61	0,60	0,64	0,58	0,66
31	CMA431	0,67	0,69	0,66	0,65	0,66	0,57	0,62	0,58	0,70	0,69	0,68	0,61	0,68
32	CMA437	0,61	0,69	0,65	0,72	0,73	0,72	0,64	0,64	0,63	0,64	0,65	0,61	0,69
33	CMA463	0,51	0,59	0,64	0,57	0,65	0,56	0,60	0,55	0,59	0,59	0,55	0,49	0,64
34	CMU500	0,62	0,70	0,66	0,65	0,66	0,56	0,60	0,62	0,62	0,62	0,65	0,57	0,70
35	CMU505	0,64	0,68	0,75	0,66	0,66	0,60	0,63	0,60	0,64	0,61	0,63	0,64	0,69

TABELA 1A, CONT,

Nº	Clones	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
36	CMU549	0,66	0,74	0,72	0,72	0,70	0,64	0,66	0,69	0,68	0,64	0,70	0,63	0,72
37	CMU601	0,57	0,70	0,63	0,66	0,61	0,57	0,68	0,60	0,65	0,59	0,74	0,58	0,67
38	CMU605	0,57	0,72	0,68	0,64	0,64	0,59	0,69	0,61	0,62	0,63	0,72	0,57	0,71
39	CMU607	0,63	0,69	0,67	0,65	0,63	0,58	0,67	0,65	0,62	0,62	0,71	0,66	0,67
40	CMU609	0,70	0,71	0,62	0,65	0,64	0,59	0,66	0,63	0,68	0,67	0,70	0,63	0,73
41	CMU610	0,68	0,63	0,64	0,67	0,60	0,61	0,66	0,64	0,73	0,59	0,67	0,61	0,70
42	CMU611	0,60	0,65	0,63	0,63	0,62	0,65	0,63	0,66	0,69	0,67	0,73	0,67	0,66
43	CMU612	0,69	0,69	0,65	0,66	0,61	0,60	0,66	0,68	0,66	0,64	0,74	0,66	0,62
44	CMU613	0,64	0,68	0,63	0,61	0,61	0,67	0,69	0,67	0,68	0,66	0,74	0,68	0,68
45	CMU614	0,68	0,67	0,59	0,65	0,62	0,61	0,71	0,68	0,63	0,70	0,69	0,57	0,66
46	CMU616	0,65	0,69	0,64	0,63	0,63	0,59	0,62	0,67	0,69	0,64	0,65	0,72	0,69
47	CMU617	0,66	0,72	0,59	0,64	0,62	0,65	0,68	0,59	0,67	0,66	0,69	0,59	0,74
48	CMU618	0,65	0,70	0,76	0,70	0,68	0,63	0,67	0,65	0,61	0,61	0,63	0,60	0,70
49	CMU619	0,58	0,69	0,64	0,60	0,60	0,60	0,63	0,66	0,66	0,59	0,65	0,62	0,67
50	CMU623	0,67	0,55	0,58	0,58	0,59	0,55	0,61	0,60	0,66	0,57	0,61	0,56	0,67
51	CMU624	0,65	0,70	0,66	0,69	0,69	0,68	0,66	0,65	0,65	0,66	0,72	0,59	0,73
52	CMU625	0,65	0,71	0,65	0,60	0,62	0,55	0,70	0,67	0,66	0,63	0,72	0,63	0,69
53	CMU626	0,66	0,69	0,66	0,67	0,63	0,66	0,68	0,72	0,71	0,64	0,75	0,67	0,69
54	CMU631	0,66	0,69	0,64	0,63	0,65	0,59	0,65	0,68	0,66	0,67	0,74	0,62	0,67
55	CMU648	0,69	0,73	0,70	0,74	0,67	0,64	0,74	0,67	0,75	0,71	0,74	0,62	0,71
56	CMU691	0,65	0,72	0,73	0,66	0,66	0,67	0,67	0,63	0,66	0,62	0,66	0,64	0,68
57	CMU722	0,65	0,68	0,72	0,68	0,71	0,72	0,65	0,71	0,68	0,66	0,68	0,60	0,73
58	CIR815	0,60	0,69	0,64	0,65	0,68	0,60	0,63	0,55	0,65	0,60	0,63	0,60	0,66
59	CIR819	0,71	0,67	0,60	0,64	0,64	0,58	0,67	0,65	0,65	0,68	0,66	0,60	0,66
60	CMU861	0,63	0,62	0,65	0,64	0,62	0,58	0,69	0,69	0,73	0,57	0,69	0,64	0,69
61	CMU862	0,68	0,72	0,65	0,67	0,69	0,63	0,70	0,69	0,68	0,62	0,68	0,64	0,71
62	CMU871	0,60	0,67	0,65	0,61	0,63	0,61	0,61	0,65	0,65	0,63	0,69	0,62	0,68
63	CMU882	0,64	0,72	0,65	0,66	0,67	0,65	0,69	0,71	0,70	0,63	0,75	0,67	0,70
64	CMU896	0,55	0,58	0,64	0,62	0,60	0,65	0,57	0,61	0,53	0,56	0,54	0,54	0,66
65	CMU899	0,69	0,74	0,64	0,70	0,69	0,70	0,67	0,73	0,67	0,60	0,68	0,64	0,71
66	CIR903	0,68	0,72	0,68	0,67	0,74	0,65	0,70	0,65	0,68	0,68	0,69	0,60	0,72
67	CMU908	0,64	0,69	0,63	0,64	0,63	0,61	0,72	0,61	0,63	0,68	0,69	0,61	0,70
68	CMU911	0,62	0,72	0,65	0,67	0,70	0,61	0,64	0,58	0,65	0,66	0,65	0,61	0,66
69	CMU922	0,60	0,68	0,68	0,71	0,68	0,66	0,59	0,60	0,59	0,56	0,63	0,61	0,65
70	CMU932	0,66	0,70	0,61	0,67	0,61	0,66	0,68	0,65	0,70	0,67	0,69	0,61	0,69

TABELA 1A, CONT,

Nº	Clones	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
71	CMU948	0,60	0,73	0,73	0,75	0,72	0,69	0,67	0,70	0,69	0,63	0,68	0,64	0,74
72	CMU949	0,69	0,72	0,71	0,73	0,72	0,64	0,71	0,69	0,66	0,69	0,74	0,65	0,70
73	CMU950	0,70	0,68	0,63	0,61	0,68	0,62	0,65	0,66	0,62	0,65	0,65	0,57	0,73
74	CMU952	0,66	0,72	0,61	0,63	0,67	0,59	0,70	0,61	0,66	0,70	0,70	0,57	0,70
75	CMU968	0,56	0,67	0,58	0,70	0,62	0,65	0,58	0,56	0,62	0,62	0,62	0,59	0,68

TABELA 1A, CONT,

Nº	Clones	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
14	CMA243	1												
15	CMA274	0,64	1											
16	CMA276	0,69	0,71	1										
17	CMU300	0,71	0,63	0,63	1									
18	CMA314	0,76	0,67	0,67	0,64	1								
19	CMA347	0,69	0,62	0,64	0,64	0,66	1							
20	CMA348	0,73	0,62	0,66	0,66	0,63	0,59	1						
21	CMA352	0,81	0,68	0,70	0,67	0,72	0,67	0,73	1					
22	CMA370	0,75	0,66	0,62	0,66	0,69	0,66	0,71	0,71	1				
23	CMA372	0,68	0,64	0,61	0,68	0,61	0,66	0,58	0,63	0,71	1			
24	CMU375	0,68	0,62	0,66	0,64	0,62	0,58	0,68	0,67	0,66	0,65	1		
25	CMU376	0,67	0,62	0,64	0,57	0,64	0,54	0,67	0,65	0,64	0,61	0,62	1	
26	CMU381	0,70	0,72	0,67	0,68	0,66	0,62	0,69	0,72	0,67	0,61	0,63	0,59	1
27	CMU385	0,71	0,67	0,70	0,75	0,65	0,71	0,61	0,69	0,66	0,66	0,66	0,60	0,62
28	CMU388	0,70	0,64	0,65	0,69	0,63	0,57	0,65	0,76	0,63	0,68	0,68	0,58	0,71
29	CMU389	0,73	0,63	0,68	0,70	0,64	0,67	0,62	0,72	0,71	0,70	0,67	0,61	0,70
30	CMA426	0,71	0,64	0,64	0,64	0,65	0,72	0,62	0,71	0,70	0,69	0,61	0,60	0,62
31	CMA431	0,69	0,64	0,63	0,69	0,62	0,66	0,64	0,71	0,65	0,61	0,66	0,65	0,64
32	CMA437	0,76	0,70	0,71	0,66	0,69	0,67	0,71	0,74	0,66	0,60	0,65	0,72	0,68
33	CMA463	0,63	0,63	0,61	0,61	0,63	0,61	0,61	0,62	0,67	0,60	0,60	0,64	0,56
34	CMU500	0,68	0,59	0,58	0,63	0,61	0,59	0,58	0,67	0,62	0,57	0,64	0,62	0,61
35	CMU505	0,70	0,63	0,60	0,63	0,67	0,70	0,61	0,72	0,70	0,59	0,62	0,61	0,66
36	CMU549	0,76	0,65	0,68	0,69	0,70	0,75	0,66	0,74	0,75	0,73	0,72	0,65	0,67
37	CMU601	0,68	0,60	0,64	0,71	0,66	0,63	0,63	0,70	0,63	0,59	0,65	0,55	0,69
38	CMU605	0,70	0,70	0,65	0,66	0,66	0,63	0,64	0,73	0,64	0,56	0,64	0,59	0,66

TABELA 1A, CONT,

Nº	Clones	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
39	CMU607	0,69	0,64	0,66	0,64	0,63	0,63	0,57	0,70	0,63	0,61	0,64	0,58	0,71
40	CMU609	0,71	0,60	0,69	0,69	0,66	0,67	0,65	0,71	0,72	0,65	0,67	0,59	0,68
41	CMU610	0,67	0,69	0,69	0,65	0,67	0,60	0,61	0,68	0,67	0,58	0,67	0,59	0,66
42	CMU611	0,65	0,71	0,71	0,63	0,66	0,63	0,62	0,66	0,66	0,60	0,65	0,62	0,69
43	CMU612	0,70	0,65	0,66	0,68	0,66	0,56	0,65	0,75	0,68	0,61	0,65	0,58	0,73
44	CMU613	0,69	0,68	0,71	0,68	0,68	0,60	0,63	0,73	0,66	0,62	0,67	0,57	0,72
45	CMU614	0,67	0,71	0,70	0,65	0,63	0,63	0,65	0,72	0,64	0,60	0,60	0,59	0,78
46	CMU616	0,65	0,62	0,64	0,67	0,66	0,65	0,56	0,72	0,65	0,62	0,63	0,56	0,67
47	CMU617	0,71	0,66	0,70	0,72	0,67	0,68	0,62	0,65	0,65	0,66	0,64	0,56	0,67
48	CMU618	0,76	0,67	0,65	0,66	0,70	0,64	0,74	0,69	0,79	0,62	0,67	0,70	0,70
49	CMU619	0,67	0,64	0,71	0,70	0,59	0,67	0,62	0,69	0,67	0,66	0,63	0,63	0,60
50	CMU623	0,64	0,59	0,59	0,60	0,58	0,62	0,55	0,63	0,63	0,59	0,57	0,53	0,57
51	CMU624	0,66	0,71	0,67	0,69	0,66	0,63	0,64	0,74	0,67	0,64	0,63	0,63	0,77
52	CMU625	0,67	0,67	0,66	0,70	0,67	0,66	0,59	0,71	0,69	0,65	0,70	0,58	0,67
53	CMU626	0,74	0,67	0,74	0,74	0,72	0,62	0,71	0,77	0,72	0,65	0,71	0,66	0,70
54	CMU631	0,70	0,66	0,70	0,69	0,65	0,67	0,60	0,70	0,63	0,64	0,64	0,61	0,69
55	CMU648	0,76	0,72	0,75	0,71	0,74	0,65	0,69	0,78	0,68	0,67	0,70	0,62	0,69
56	CMU691	0,75	0,64	0,64	0,68	0,71	0,62	0,69	0,77	0,76	0,65	0,67	0,66	0,67
57	CMU722	0,75	0,71	0,71	0,71	0,70	0,65	0,67	0,70	0,72	0,68	0,68	0,72	0,67
58	CIR815	0,72	0,64	0,63	0,70	0,70	0,65	0,69	0,69	0,68	0,63	0,64	0,63	0,67
59	CIR819	0,71	0,65	0,68	0,67	0,67	0,64	0,66	0,70	0,64	0,67	0,60	0,61	0,69
60	CMU861	0,67	0,64	0,73	0,64	0,68	0,57	0,60	0,68	0,63	0,58	0,67	0,61	0,65
61	CMU862	0,73	0,70	0,70	0,68	0,71	0,68	0,61	0,70	0,69	0,64	0,67	0,66	0,71
62	CMU871	0,67	0,64	0,72	0,70	0,63	0,68	0,63	0,68	0,67	0,62	0,67	0,59	0,66
63	CMU882	0,71	0,69	0,70	0,71	0,71	0,67	0,64	0,75	0,72	0,62	0,70	0,65	0,70
64	CMU896	0,65	0,65	0,59	0,59	0,60	0,62	0,61	0,66	0,67	0,64	0,60	0,64	0,62
65	CMU899	0,74	0,69	0,71	0,72	0,65	0,66	0,67	0,75	0,74	0,71	0,69	0,67	0,68
66	CIR903	0,70	0,67	0,68	0,70	0,65	0,68	0,64	0,71	0,67	0,67	0,68	0,62	0,69
67	CMU908	0,68	0,65	0,63	0,61	0,68	0,67	0,58	0,70	0,67	0,65	0,62	0,62	0,72
68	CMU911	0,79	0,64	0,64	0,72	0,72	0,62	0,72	0,76	0,71	0,62	0,69	0,64	0,64
69	CMU922	0,75	0,61	0,60	0,64	0,63	0,62	0,66	0,73	0,72	0,59	0,61	0,65	0,62
70	CMU932	0,69	0,69	0,70	0,72	0,66	0,61	0,66	0,69	0,69	0,63	0,66	0,61	0,72
71	CMU948	0,79	0,68	0,66	0,70	0,71	0,73	0,70	0,77	0,76	0,69	0,72	0,68	0,72
72	CMU949	0,77	0,73	0,71	0,73	0,74	0,72	0,73	0,79	0,75	0,66	0,71	0,69	0,73
73	CMU950	0,68	0,64	0,67	0,66	0,63	0,71	0,63	0,71	0,70	0,66	0,63	0,59	0,64
74	CMU952	0,71	0,68	0,67	0,64	0,68	0,67	0,69	0,75	0,66	0,65	0,65	0,61	0,69
75	CMU968	0,72	0,60	0,62	0,65	0,71	0,60	0,63	0,66	0,73	0,57	0,63	0,63	0,64

TABELA 1A, CONT,

Nº	Clones	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
27	CMU385	1												
28	CMU388	0,66	1											
29	CMU389	0,68	0,73	1										
30	CMA426	0,78	0,66	0,68	1									
31	CMA431	0,72	0,67	0,68	0,73	1								
32	CMA437	0,73	0,66	0,67	0,68	0,65	1							
33	CMA463	0,65	0,58	0,61	0,56	0,63	0,67	1						
34	CMU500	0,62	0,60	0,61	0,66	0,71	0,60	0,55	1					
35	CMU505	0,65	0,63	0,66	0,68	0,71	0,62	0,60	0,74	1				
36	CMU549	0,70	0,68	0,75	0,68	0,65	0,73	0,66	0,73	0,72	1			
37	CMU601	0,65	0,72	0,67	0,62	0,62	0,69	0,61	0,65	0,62	0,69	1		
38	CMU605	0,65	0,68	0,75	0,65	0,66	0,70	0,62	0,62	0,61	0,67	0,67	1	
39	CMU607	0,69	0,71	0,67	0,64	0,65	0,69	0,62	0,63	0,69	0,70	0,69	0,73	1
40	CMU609	0,68	0,65	0,72	0,64	0,69	0,64	0,59	0,65	0,67	0,71	0,66	0,69	0,72
41	CMU610	0,66	0,64	0,69	0,63	0,70	0,66	0,60	0,63	0,65	0,68	0,69	0,67	0,67
42	CMU611	0,71	0,69	0,70	0,67	0,68	0,68	0,58	0,63	0,64	0,63	0,62	0,65	0,65
43	CMU612	0,64	0,74	0,69	0,68	0,67	0,66	0,55	0,62	0,69	0,66	0,68	0,69	0,68
44	CMU613	0,69	0,77	0,73	0,72	0,68	0,66	0,58	0,59	0,71	0,66	0,66	0,72	0,70
45	CMU614	0,63	0,67	0,66	0,62	0,66	0,66	0,56	0,65	0,70	0,66	0,69	0,66	0,69
46	CMU616	0,69	0,68	0,71	0,67	0,67	0,62	0,55	0,65	0,71	0,69	0,70	0,65	0,65
47	CMU617	0,70	0,65	0,70	0,66	0,69	0,69	0,61	0,64	0,65	0,71	0,67	0,63	0,69
48	CMU618	0,67	0,68	0,71	0,69	0,69	0,66	0,61	0,65	0,71	0,72	0,62	0,68	0,66
49	CMU619	0,74	0,68	0,70	0,67	0,64	0,67	0,57	0,59	0,63	0,70	0,68	0,65	0,66
50	CMU623	0,59	0,54	0,64	0,58	0,64	0,56	0,51	0,63	0,65	0,63	0,58	0,60	0,61
51	CMU624	0,68	0,72	0,69	0,69	0,70	0,67	0,56	0,75	0,75	0,74	0,67	0,69	0,74
52	CMU625	0,68	0,68	0,70	0,69	0,69	0,64	0,62	0,64	0,68	0,72	0,70	0,69	0,70
53	CMU626	0,69	0,74	0,73	0,68	0,70	0,72	0,64	0,63	0,70	0,68	0,72	0,70	0,73
54	CMU631	0,71	0,69	0,68	0,67	0,71	0,66	0,65	0,66	0,70	0,70	0,69	0,66	0,73
55	CMU648	0,73	0,71	0,72	0,67	0,71	0,71	0,64	0,63	0,69	0,67	0,72	0,76	0,71
56	CMU691	0,67	0,71	0,67	0,74	0,68	0,70	0,64	0,67	0,70	0,69	0,68	0,68	0,65
57	CMU722	0,74	0,66	0,72	0,74	0,71	0,72	0,68	0,67	0,70	0,75	0,66	0,68	0,65
58	CIR815	0,69	0,64	0,69	0,59	0,65	0,72	0,68	0,56	0,68	0,68	0,64	0,68	0,70
59	CIR819	0,65	0,68	0,68	0,70	0,69	0,67	0,58	0,66	0,62	0,65	0,65	0,65	0,65
60	CMU861	0,62	0,72	0,65	0,63	0,67	0,66	0,59	0,62	0,67	0,67	0,70	0,62	0,66
61	CMU862	0,71	0,70	0,70	0,66	0,67	0,76	0,66	0,61	0,70	0,72	0,66	0,69	0,71
62	CMU871	0,67	0,64	0,72	0,70	0,63	0,68	0,63	0,68	0,67	0,62	0,67	0,59	0,66

TABELA 1A, CONT,

Nº	Clones	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
58	CIR815	0,69	0,64	0,69	0,59	0,65	0,72	0,68	0,56	0,68	0,68	0,64	0,68	0,70
59	CIR819	0,65	0,68	0,68	0,70	0,69	0,67	0,58	0,66	0,62	0,65	0,65	0,65	0,65
60	CMU861	0,62	0,72	0,65	0,63	0,67	0,66	0,59	0,62	0,67	0,67	0,70	0,62	0,66
61	CMU862	0,71	0,70	0,70	0,66	0,67	0,76	0,66	0,61	0,70	0,72	0,66	0,69	0,71
62	CMU871	0,67	0,64	0,72	0,70	0,63	0,68	0,63	0,68	0,67	0,62	0,67	0,59	0,66
63	CMU882	0,71	0,69	0,70	0,71	0,71	0,67	0,64	0,75	0,72	0,62	0,70	0,65	0,70
64	CMU896	0,65	0,65	0,59	0,59	0,60	0,62	0,61	0,66	0,67	0,64	0,60	0,64	0,62
65	CMU899	0,74	0,69	0,71	0,72	0,65	0,66	0,67	0,75	0,74	0,71	0,69	0,67	0,68
66	CIR903	0,70	0,67	0,68	0,70	0,65	0,68	0,64	0,71	0,67	0,67	0,68	0,62	0,69
67	CMU908	0,68	0,65	0,63	0,61	0,68	0,67	0,58	0,70	0,67	0,65	0,62	0,62	0,72
68	CMU911	0,79	0,64	0,64	0,72	0,72	0,62	0,72	0,76	0,71	0,62	0,69	0,64	0,64
69	CMU922	0,75	0,61	0,60	0,64	0,63	0,62	0,66	0,73	0,72	0,59	0,61	0,65	0,62
70	CMU932	0,69	0,69	0,70	0,72	0,66	0,61	0,66	0,69	0,69	0,63	0,66	0,61	0,72
71	CMU948	0,79	0,68	0,66	0,70	0,71	0,73	0,70	0,77	0,76	0,69	0,72	0,68	0,72
72	CMU949	0,77	0,73	0,71	0,73	0,74	0,72	0,73	0,79	0,75	0,66	0,71	0,69	0,73
73	CMU950	0,68	0,64	0,67	0,66	0,63	0,71	0,63	0,71	0,70	0,66	0,63	0,59	0,64
74	CMU952	0,71	0,68	0,67	0,64	0,68	0,67	0,69	0,75	0,66	0,65	0,65	0,61	0,69
75	CMU968	0,72	0,60	0,62	0,65	0,71	0,60	0,63	0,66	0,73	0,57	0,63	0,63	0,64

TABELA 1A, CONT,

Nº	Clones	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52
40	CMU609	1												
41	CMU610	0,69	1											
42	CMU611	0,67	0,69	1										
43	CMU612	0,69	0,69	0,71	1									
44	CMU613	0,70	0,67	0,72	0,77	1								
45	CMU614	0,66	0,67	0,66	0,69	0,71	1							
46	CMU616	0,72	0,67	0,66	0,69	0,71	0,67	1						
47	CMU617	0,76	0,68	0,70	0,66	0,66	0,61	0,67	1					
48	CMU618	0,66	0,65	0,66	0,66	0,66	0,66	0,64	0,65	1				
49	CMU619	0,68	0,62	0,71	0,67	0,65	0,64	0,73	0,67	0,68	1			
50	CMU623	0,71	0,65	0,61	0,63	0,61	0,69	0,64	0,66	0,59	0,59	1		
51	CMU624	0,72	0,68	0,68	0,69	0,76	0,72	0,68	0,71	0,71	0,62	0,68	1	
52	CMU625	0,74	0,68	0,68	0,75	0,74	0,68	0,63	0,71	0,67	0,67	0,66	0,68	1

TABELA 1A, CONT,

Nº	Clones	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52
53	CMU626	0,70	0,73	0,72	0,74	0,75	0,72	0,67	0,68	0,73	0,68	0,66	0,72	0,73
54	CMU631	0,68	0,64	0,69	0,69	0,68	0,67	0,67	0,68	0,66	0,66	0,64	0,69	0,69
55	CMU648	0,75	0,73	0,71	0,74	0,77	0,70	0,66	0,71	0,66	0,68	0,69	0,72	0,74
56	CMU691	0,68	0,64	0,69	0,70	0,68	0,60	0,67	0,65	0,75	0,69	0,59	0,69	0,68
57	CMU722	0,68	0,70	0,74	0,66	0,72	0,70	0,70	0,70	0,76	0,74	0,66	0,72	0,70
58	CIR815	0,70	0,62	0,63	0,65	0,66	0,59	0,60	0,63	0,69	0,64	0,58	0,65	0,65
59	CIR819	0,72	0,66	0,65	0,70	0,70	0,73	0,66	0,62	0,64	0,68	0,69	0,69	0,66
60	CMU861	0,66	0,76	0,70	0,65	0,73	0,67	0,70	0,70	0,68	0,66	0,65	0,66	0,72
61	CMU862	0,70	0,67	0,70	0,73	0,72	0,73	0,69	0,71	0,70	0,69	0,60	0,67	0,75
62	CMU871	0,69	0,65	0,70	0,64	0,72	0,68	0,68	0,72	0,68	0,68	0,62	0,74	0,66
63	CMU882	0,74	0,71	0,77	0,74	0,74	0,71	0,72	0,71	0,71	0,76	0,64	0,72	0,74
64	CMU896	0,58	0,58	0,62	0,58	0,58	0,60	0,60	0,58	0,71	0,65	0,55	0,65	0,61
65	CMU899	0,70	0,67	0,70	0,68	0,71	0,67	0,72	0,67	0,76	0,71	0,67	0,74	0,69
66	CIR903	0,71	0,66	0,71	0,68	0,72	0,67	0,64	0,71	0,72	0,64	0,63	0,74	0,70
67	CMU908	0,70	0,69	0,66	0,64	0,66	0,70	0,66	0,61	0,65	0,62	0,67	0,70	0,67
68	CMU911	0,68	0,63	0,65	0,66	0,70	0,66	0,63	0,67	0,69	0,61	0,60	0,68	0,67
69	CMU922	0,67	0,61	0,61	0,63	0,63	0,65	0,68	0,65	0,75	0,70	0,64	0,64	0,62
70	CMU932	0,73	0,72	0,66	0,70	0,75	0,70	0,69	0,75	0,73	0,66	0,66	0,72	0,68
71	CMU948	0,69	0,68	0,70	0,73	0,72	0,70	0,72	0,70	0,73	0,69	0,63	0,73	0,70
72	CMU949	0,70	0,72	0,70	0,72	0,72	0,76	0,69	0,67	0,75	0,69	0,62	0,75	0,73
73	CMU950	0,67	0,62	0,63	0,67	0,73	0,67	0,65	0,64	0,68	0,65	0,66	0,71	0,71
74	CMU952	0,70	0,63	0,69	0,71	0,74	0,71	0,64	0,67	0,68	0,65	0,67	0,71	0,72
75	CMA968	0,69	0,66	0,64	0,64	0,64	0,60	0,63	0,72	0,68	0,64	0,63	0,62	0,60

TABELA 1A, CONT,

Nº	Clones	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65
53	CMU626	1												
54	CMU631	0,68	1											
55	CMU648	0,79	0,72	1										
56	CMU691	0,73	0,67	0,72	1									
57	CMU722	0,73	0,72	0,73	0,73	1								
58	CIR815	0,69	0,68	0,69	0,69	0,67	1							

TABELA 1A, CONT,

Nº	Clones	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65
59	CIR819	0,72	0,69	0,74	0,68	0,72	0,65	1						
60	CMU861	0,77	0,65	0,76	0,67	0,70	0,61	0,67	1					
61	CMU862	0,74	0,70	0,72	0,69	0,74	0,68	0,72	0,71	1				
62	CMU871	0,70	0,70	0,70	0,71	0,69	0,64	0,66	0,66	0,69	1			
63	CMU882	0,74	0,73	0,76	0,71	0,75	0,68	0,72	0,73	0,75	0,76	1		
64	CMU896	0,61	0,62	0,62	0,67	0,70	0,65	0,63	0,56	0,66	0,59	0,62	1	
65	CMU899	0,76	0,72	0,72	0,74	0,77	0,67	0,68	0,67	0,71	0,69	0,76	0,68	1
66	CIR903	0,73	0,74	0,78	0,68	0,75	0,71	0,70	0,67	0,69	0,70	0,75	0,66	0,74
67	CMU908	0,71	0,67	0,70	0,65	0,70	0,71	0,66	0,63	0,66	0,64	0,71	0,60	0,65
68	CMU911	0,70	0,62	0,76	0,71	0,68	0,72	0,67	0,70	0,70	0,71	0,73	0,61	0,66
69	CMU922	0,69	0,68	0,66	0,72	0,71	0,68	0,64	0,64	0,64	0,62	0,73	0,66	0,73
70	CMU932	0,73	0,67	0,74	0,70	0,76	0,66	0,66	0,71	0,72	0,71	0,71	0,61	0,71
71	CMU948	0,73	0,70	0,74	0,75	0,76	0,73	0,74	0,70	0,76	0,75	0,79	0,70	0,77
72	CMU949	0,76	0,72	0,76	0,74	0,76	0,68	0,73	0,71	0,75	0,74	0,77	0,67	0,79
73	CMU950	0,68	0,73	0,70	0,69	0,73	0,64	0,68	0,61	0,64	0,71	0,72	0,58	0,71
74	CMU952	0,70	0,67	0,74	0,68	0,71	0,67	0,77	0,64	0,70	0,64	0,69	0,59	0,66
75	CMU968	0,65	0,60	0,71	0,64	0,69	0,70	0,63	0,66	0,65	0,64	0,69	0,63	0,63

TABELA 1A, CONT,

Nº	Clones	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
66	CIR903	1									
67	CMU908	0,70	1								
68	CMU911	0,67	0,66	1							
69	CMU922	0,70	0,64	0,66	1						
70	CMU932	0,67	0,68	0,67	0,67	1					
71	CMU948	0,76	0,67	0,75	0,73	0,74	1				
72	CMU949	0,75	0,68	0,76	0,73	0,73	0,82	1			
73	CMU950	0,75	0,63	0,69	0,62	0,65	0,72	0,72	1		
74	CMU952	0,76	0,71	0,70	0,65	0,71	0,72	0,74	0,74	1	
75	CMU968	0,65	0,66	0,69	0,70	0,68	0,69	0,66	0,61	0,64	1

TABELA 2A Matriz das distâncias generalizadas de Mahalanobis D^2 entre 27 clones utilizados no melhoramento de guaraná,

Nº	Clones	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	CIR217	0								
2	CMA222	92,87	0							
3	CMA223	292,35	100,72	0						
4	CMA224	398,17	380,65	421,67	0					
5	CMA225	148,78	87,76	150,24	178,93	0				
6	CMA227	291,25	238,18	253,19	80,94	96,99	0			
7	CMA228	305,55	231,21	162,71	183,94	167,54	110,77	0		
8	CMA274	519,55	331,51	158,58	236,37	246,58	160,91	74,31	0	
9	CMU300	125,72	35,28	147,80	295,39	87,64	214,94	209,17	312,35	0
10	CMU375	640,43	388,45	135,45	477,40	322,37	319,68	219,86	124,55	407,10
11	CMU388	341,14	175,24	91,16	387,51	113,26	175,09	193,34	213,91	201,15
12	CMU601	444,87	193,56	99,22	491,59	281,48	368,77	310,29	226,65	207,44
13	CMU605	502,89	287,10	297,84	366,52	257,58	340,98	431,25	339,32	218,38
14	CMU607	334,84	187,33	172,48	222,55	113,11	158,83	213,57	164,90	148,98
15	CMU609	369,38	156,55	117,84	416,11	248,15	362,23	274,28	248,90	135,40
16	CMU610	555,66	300,93	231,84	390,98	271,33	367,97	399,32	275,10	265,38
17	CMU611	1219,55	940,72	595,94	463,30	711,28	487,96	382,21	201,74	868,55
18	CMU612	442,69	198,34	93,32	433,45	180,66	313,03	314,78	249,26	231,36
19	CMU613	805,38	542,90	253,78	407,35	445,57	346,15	208,96	65,79	530,27
20	CMU619	417,56	205,50	185,52	280,88	187,87	240,71	296,57	215,30	167,81
21	CMU624	393,08	195,25	106,57	303,93	166,47	244,95	243,48	178,29	187,45
22	CMU626	197,51	67,93	135,33	387,10	98,98	227,15	276,85	313,38	73,98
23	CMU631	273,72	157,10	166,94	201,26	70,28	159,80	252,32	264,05	132,23
24	CMU861	237,30	128,88	138,47	140,83	73,74	118,89	110,81	159,53	75,23
25	CMU862	984,87	763,15	508,58	317,49	560,76	352,79	301,42	153,66	692,52
26	CMU871	359,71	156,79	80,87	363,97	185,35	277,94	229,22	180,90	155,49
27	CMU882	539,43	370,11	176,69	594,80	393,29	433,75	226,44	278,89	368,53

TABELA 2A, CONT,

Nº	Clones	10	11	12	13	14	15	16	17	18
10	CMU375	0								
11	CMU388	185,94	0							
12	CMU601	197,09	235,96	0						
13	CMU605	364,01	358,14	157,26	0					
14	CMU607	206,12	194,75	150,00	80,03	0				
15	CMU609	260,27	284,03	42,15	135,04	153,94	0			
16	CMU610	296,72	318,55	112,11	52,86	125,54	102,95	0		
17	CMU611	326,71	612,93	596,86	684,31	532,41	627,86	538,86	0	
18	CMU612	170,18	151,29	122,60	188,57	165,22	127,68	102,16	591,78	0
19	CMU613	132,32	340,95	296,14	471,34	308,47	334,52	326,21	130,48	297,31
20	CMU619	284,72	252,18	85,26	39,40	69,37	75,41	30,26	532,66	122,06
21	CMU624	148,51	189,19	68,18	101,94	78,67	61,17	59,50	472,68	52,02
22	CMU626	305,82	138,33	151,44	155,22	91,52	157,20	207,80	856,70	161,05
23	CMU631	256,01	174,59	218,94	180,12	95,15	192,51	202,04	641,45	140,70
24	CMU861	251,42	182,54	199,55	190,93	96,97	136,59	209,46	520,05	188,38
25	CMU862	302,40	543,96	475,84	486,93	377,54	475,07	386,30	52,20	469,25
26	CMU871	174,75	192,13	41,86	119,94	102,52	31,39	72,20	530,16	70,08
27	CMU882	244,23	219,75	338,09	638,78	460,48	351,10	566,21	602,91	373,70

TABELA 2A, CONT,

Nº	Clones	19	20	21	22	23	24	25	26	27
19	CMU613	0								
20	CMU619	319,56	0							
21	CMU624	241,23	47,52	0						
22	CMU626	513,85	136,70	141,17	0					
23	CMU631	416,24	146,60	98,75	131,11	0				
24	CMU861	334,09	128,82	111,61	146,10	68,52	0			
25	CMU862	130,98	361,60	333,88	682,47	510,18	389,34	0		
26	CMU871	256,00	51,67	19,58	127,27	154,36	117,28	385,44	0	
27	CMU882	376,35	504,24	362,14	402,30	387,66	300,09	629,25	338,56	0

TABELA 3A Resumo da análise de variância entre grupos formados pelo Método de Tocher com base na estimativa de distância D^2 .

Caracteres	Safr	Grupos						
		1	2	3	4	5	6	7
Peso médio de cacho	1 *	103,97	102,29	117,73	133,76	128,92	137,94	54,88
	2	93,23	81,55	87,44	84,64	80,73	98,31	77,18
Peso total de frutos/cacho	1 **	93,24	90,25	100,37	122,69	112,49	130,40	48,90
	2	85,54	77,88	80,82	78,48	74,37	91,05	66,12
Número médio de frutos por cacho	1	23,22	21,97	23,22	28,66	33,72	23,31	15,98
	2 **	4,94	4,01	4,10	5,54	4,56	5,31	5,43
Peso médio de fruto	1	4,15	4,51	4,41	4,36	3,42	5,61	3,13
	2 **	3,33	4,96	5,20	2,22	3,53	3,02	2,14
Peso médio de semente	1 **	1,41	1,40	1,44	1,04	1,36	1,93	0,86
	2 **	1,25	1,53	1,68	1,08	1,20	1,10	1,00
Diâmetro longitudinal da semente	1 *	10,75	11,15	11,96	11,13	11,98	11,22	9,33
	2 **	10,58	11,94	11,51	11,39	10,70	11,68	11,56
Diâmetro transversal da semente	1 *	11,91	11,65	12,25	11,27	12,80	12,66	10,26
	2 **	11,89	11,67	12,16	12,70	12,05	11,62	11,52
Comprimento do ráquis	1	22,41	19,40	29,80	21,90	27,55	16,00	22,70
Nº de flores femininas por inflorescência ¹	1 **	62,70	55,00	91,85	78,00	148,10	65,43	90,89
Nº de frutos com 2 sementes por cacho ¹	2	6,00	4,56	4,88	7,40	4,74	6,90	7,34
Nº de frutos com 3 sementes por cacho ¹	2 **	2,12	1,04	1,84	5,85	1,84	4,56	4,70

¹ Dados transformados $\sqrt{x+0,5}$

* e ** Diferença significativa para $P<0,05$ e a $P<0,01$, respectivamente