

VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE ACESSOS DE UMBU-CAJAZEIRA MEDIANTE ANÁLISE DE MARCADORES ISSR¹

IVONILDA BARBOSA BRITO SANTANA², EDER JORGE DE OLIVEIRA³,
WALTER DOS SANTOS SOARES FILHO³, ROGÉRIO RITZINGER³, EDSON PERITO AMORIM³,
MARIA ANGÉLICA PEREIRA DE CARVALHO COSTA⁴, RICARDO FRANCO CUNHA MOREIRA⁴

RESUMO – A umbu-cajazeira (*Spondias* sp.) é uma frutífera nativa do Semiárido brasileiro, ainda em fase de domesticação, cujos frutos apresentam excelentes perspectivas de aproveitamento comercial. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a variabilidade genética entre acessos de umbu-cajazeira pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de Fruteiras Tropicais da Embrapa Mandioca e Fruticultura, por meio de marcadores moleculares ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*). Foram analisados 17 acessos de umbu-cajazeira, com 25 marcadores ISSR, os quais produziram um total de 249 bandas, sendo 201 bandas polimórficas e 48 monomórficas. As dissimilaridades genéticas entre os acessos variaram de 0,247 a 0,665, com base no coeficiente de Jaccard. O método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Average*) agrupou os acessos em cinco grupos, sendo que ‘Preciosa’ e ‘Suprema’ foram os acessos mais similares. A maior dissimilaridade foi observada entre os acessos ‘Esperança’ e ‘Pomar’. O alto grau de polimorfismo encontrado demonstrou a eficiência dos marcadores ISSR, indicando que estes podem ser utilizados com sucesso na caracterização molecular de germoplasma e em futuros trabalhos de melhoramento genético dessa frutífera. Existe considerável variabilidade genética entre os acessos de umbu-cajazeira presentes no BAG Fruteiras Tropicais, que pode ser explorada para a conservação e o melhoramento da espécie.

Termos para indexação: *Spondias* sp., marcadores moleculares, divergência genética, Anacardiaceae.

GENETIC VARIABILITY AMONG UMBU-CAJAZEIRA ACCESSIONS BY ISSR MARKERS

ABSTRACT- The umbu-cajazeira (*Spondias* sp.) is a native fruit of the Brazilian Semi-arid, still in the process of domestication, whose fruits have excellent prospects for commercial utilization. The objective of this study was to characterize the genetic variability among accessions of umbu-cajazeira from the Active Germplasm Bank of Tropical Fruits of Embrapa Cassava & Fruits, using ISSR markers. Seventeen accessions of umbu-cajazeira were analyzed, which produced a total of 249 bands, out of which 201 were polymorphic bands and 48 bands were monomorphic. The genetic dissimilarity among accessions ranged from 0.247 to 0.665. The UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Average*) method grouped the accessions into five groups, showing that ‘Preciosa’ and ‘Suprema’ were the most similar accessions. The greatest dissimilarity was observed between the accessions ‘Esperança’ and ‘Pomar’. It was found a high degree of polymorphism, which demonstrates the efficiency of ISSR markers, indicating that these can be successfully used for molecular germplasm characterization and in future breeding studies with this fruit crop. There is considerable genetic variability among the umbu-cajazeira accessions of the Active Germplasm Bank of Tropical Fruits, which can be used for conservation and cultivar improvement.

Index terms – *Spondias* sp., molecular markers, genetic divergence, Anacardiaceae.

¹(Trabalho 174-10). Recebido em: 08/10/2010. Aceito para publicação em:05-01-2011.

²Mestre em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, CEP 44380-000. E-mail: ivonsantana@ig.com.br

³Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Rua da Embrapa, s/n, Caixa Postal 007, Cruz das Almas, BA, CEP 44380-000. E-mail: eder@cnpmf.embrapa.br; wsoares@cnpmf.embrapa.br; rogerio@cnpmf.embrapa.br; edson@cnpmf.embrapa.br

⁴Professor Dr. da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. E-mail: mapcosta@ufbr.edu.br; ricardofcm@ufbr.edu.br

INTRODUÇÃO

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

Usualmente, é propagada pelo método vegetativo, mediante estacas de 35 cm de comprimento e 1,5 cm de diâmetro, ou por enxertia, sobre porta-enxerto de umbuzeiro, pois apresenta cerca de 90% dos frutos desprovidos de sementes, o que dificulta sua propagação sexual (RITZINGER et al., 2008).

A Caatinga é um ecossistema que, apesar da rica diversidade de espécies vegetais adaptadas às condições de estresse hídrico, tem sido objeto de poucos trabalhos de prospecção e conservação da sua variabilidade genética, sendo o Semiárido uma das regiões mais degradadas do Brasil (SANTOS, 2007). Portanto, um dos grandes desafios para a preservação dos recursos genéticos de espécies vegetais do Semiárido é a estratégia de definição de locais de amostragem, tamanho das amostras e formas de conservação, tanto *in situ* (áreas de preservação ambiental, parques e fazendas), como *ex situ* (bancos de germoplasma) e *in vitro* (coleções de sementes em câmaras frias) (SANTOS, 2007).

Neste contexto, desde o ano 2000, a Embrapa Mandioca e Fruticultura vem realizando trabalhos de prospecção genética no Estado da Bahia, em vários municípios, no sentido de localizar áreas de ocorrência, além de preservar, caracterizar e avaliar genótipos de umbu-cajazeira. Os genótipos coletados foram georreferenciados e avaliações preliminares foram realizadas nos frutos desses indivíduos, no sentido de detectar genótipos superiores em relação a características morfoagronômicas. Aqueles que se destacaram, com base nessas análises, foram clonados e compõem o Banco Ativo de Germoplasma de Fruteiras Tropicais da Embrapa Mandioca e Fruticultura - BAG Fruteiras Tropicais, atualmente com 26 acessos, sendo 20 de umbu-cajazeiras, constituindo o primeiro banco de germoplasma desta espécie no Estado da Bahia.

A diversidade genética é a multiplicidade de frequências alélicas presentes em um grupo de indivíduos, o qual, junto com o ambiente, fornece a natureza do fenótipo e é base fundamental em

programas de melhoramento genético. Explorar a diversidade de espécies cultivadas de importância econômica é uma tarefa fundamental em todos os programas de pesquisa agrícola (CARDONA, 2010).

Os principais estudos envolvendo umbu-cajazeira baseiam-se, predominantemente, em avaliações morfológicas de plantas e frutos, estes caracterizados mediante parâmetros físicos, químicos e físico-químicos. Relata-se que, em tais pesquisas, observa-se grande variabilidade dentro desses caracteres.

No entanto, estudos de diversidade genética em umbu-cajazeira, usando marcadores moleculares, são incipientes. A utilização de marcadores genéticos em estudos populacionais de espécies arbóreas tem demonstrado tratar-se de ferramenta com grande poder de discriminação (FREITAS et al., 2005). Neste aspecto, o marcador ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*), que se baseia na amplificação de regiões entre sequências microssatélites adjacentes do DNA via PCR (*Polymerase Chain Reaction*), além de não exigir um conhecimento prévio do genoma (GONZALÉZ et al., 2002), apresenta elevado grau de polimorfismo, reprodutibilidade e baixo custo.

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

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Virologia e Biologia Molecular da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Foram utilizados 17 acessos de umbu-cajazeiras pertencentes ao BAG Fruteiras Tropicais da Embrapa Mandioca e Fruticultura (Tabela 1).

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

Uma pré-seleção com 95 iniciadores ISSR foi realizada nos seis acessos de umbu-cajazeiras mais divergentes, com base em algumas características físicas, químicas e físico-químicas de frutos. Os iniciadores que apresentaram bandas mais nítidas foram os selecionados, num total de 50. Após essa

etapa, foram escolhidos os iniciadores que permitiram a obtenção de fragmentos de alta intensidade e a presença de polimorfismo, totalizando 25, os quais foram utilizados em todos os acessos estudados.

As reações de amplificação foram realizadas em volume de 15 μ L, contendo: 12 ng de DNA; 20 mM de Tris-HCl (pH 8,4); 50 mM de KCl; 0,3 mM dos iniciadores; 1,5 ou 2,5 mM de MgCl₂; 0,25 mM de dNTPs, e 0,75 U de *Taq* DNA Polimerase. O programa de amplificação foi feito em termociclador Perkin Elmer, modelo 9700, e constou de uma etapa a 94°C por 4 min, seguida de 35 ciclos de 94°C por 40 s, anelamento de 48°C, 50°C ou 52°C por 40s e 72°C por 1 min, com extensão final de 72°C por 2 min. Os produtos da amplificação foram separados por eletroforese horizontal (120 V, por 3h30min) em gel de agarose 2,5% (p/v). Após a eletroforese, o gel foi exposto à luz ultravioleta e fotografado. Os produtos amplificados foram avaliados como ausência (0) e presença (1).

A dissimilaridade genética entre os 17 acessos foi calculada a partir do complemento do coeficiente de Jaccard. As dissimilaridades genéticas foram utilizadas para a análise de agrupamento dos acessos, pelo método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Average*), por meio do software NTSYS-pc (ROHLF, 2000). Foi calculado o coeficiente de correlação cofenética (CCC) entre a matriz de dissimilaridades genéticas e a matriz dos valores cofenéticos, a fim de verificar a consistência do agrupamento. Valores de CCC acima de 0,8 indicam boa representatividade entre as distâncias (BUSSAD et al., 1990). A análise de reamostragem (*bootstrap*) também foi realizada a fim de verificar se o número de marcadores foi suficiente para determinar com precisão as estimativas de dissimilaridade genética entre os acessos, pelo programa GQMol (CRUZ; SHUSTER, 2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi constatada a existência de grande variabilidade genética entre os acessos de umbu-cajazeira avaliados. Os 25 iniciadores ISSR selecionados (Tabela 2) permitiram a obtenção de 249 fragmentos amplificados. O número de fragmentos por iniciador variou entre 5 e 16, mas, em média, foram obtidos 10 fragmentos. Dos 249 fragmentos, 80% geraram polimorfismo, com média de 8 bandas polimórficas por iniciador.

Por meio da análise de reamostragem, foi possível identificar que 160 bandas foram suficientes para uma precisa estimativa da divergência genética entre os 17 acessos de umbu-cajazeira (Figura 1). A

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

Neste trabalho, a alta média de fragmentos por iniciador e a baixa porcentagem de iniciadores monomórficos evidenciaram a grande variabilidade genética intraespecífica dos acessos de umbu-cajazeira analisados e, também, mostrou a validação dos iniciadores ISSR testados, os quais serão utilizados na caracterização de genótipos e em estudos de estrutura de populações, a fim de direcionar o programa de conservação, manejo e melhoramento da espécie. A Figura 2 ilustra o padrão eletroforético obtido pelo iniciador TriCGA3[®]RC.

Marcadores moleculares baseados em ISSR têm sido empregados com sucesso nas estimativas de variabilidade genética em espécies silvestres e cultivadas, tanto intra quanto interpopulacionais (GHARIANI et al., 2003; OLIVEIRA et al. 2009; ROSSATO et al., 2007; UYSAL et al., 2010).

As dissimilaridades genéticas, entre os 17 acessos de umbu-cajazeira, variaram de 0,247 a 0,665. Verificou-se que o menor grau de dissimilaridade ocorreu entre os acessos ‘Preciosa’ e ‘Suprema’ (0,247), enquanto os mais distantes (máxima dissimilaridade) foram ‘Esperança’ e ‘Pomar’ (0,665). Lira Júnior et al. (2008), ao estudarem a variabilidade genética de um banco de germoplasma de cajá-umbuzeiro na Zona da Mata de Pernambuco, por meio da eletroforese de isoenzimas, concluíram que a maioria dos genótipos apresentou grande similaridade genética, possivelmente devido ao alto grau de parentesco constatado, recomendando novas introduções no Banco Ativo de Germoplasma de Cajá-umbuzeiro da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária.

O resultado da análise de correlação cofenética demonstrou uma associação de 83% entre as distâncias obtidas pelo coeficiente de Jaccard (matriz de dissimilaridade) e as representadas no dendrograma (matriz cofenética). O valor cofenético encontrado foi alto ($r = 0,83$, $P < 0.0001$, 10.000 permutações) e adequado, já que valores de $r \geq 0,56$ são considerados ideais, o que reflete boa concordância com os valores de similaridade genética (VAZ PATTO et al., 2004).

Por meio do dendrograma da divergência genética dos acessos de umbu-cajazeira, com base em marcadores ISSR (Figura 3), é possível observar a formação de cinco agrupamentos principais, tomando-se como ponto de corte a distância média de 0,44: o **grupo 1** com três acessos [‘Suprema’

(BFT001 – Itaberaba), ‘Ouro’ (BFT002 – Santa Teresinha) e ‘Princesa’ (BFT003 – Iaçú)]; o **grupo 2** composto por dez acessos [‘Esperança’ (BFT004 – Itaberaba), ‘Pomar’ (BFT005 – Iaçú), ‘Primavera I’ (BFT007 – Tanquinho de Feira), ‘Primavera II’ (BFT008 – Tanquinho de Feira), ‘Pingo de Mel’ (BFT009 – Santa Bárbara), ‘Aurora’ (BFT006 – Cruz das Almas), ‘Favo de Mel’ (BFT011 – Itaberaba), ‘Boa Vista’ (BFT013 – Boa Vista do Tupim), ‘Preciosa’ (BFT012 – Itaberaba), ‘Monte Castelo’ (BFT 14 – Itaberaba)]; o **grupo 3** formado por um acesso [‘Santa Bárbara’ (BFT010 – Santa Bárbara)]; o **grupo 4** com um acesso [‘Gigante de Santa Bárbara’ (BFT020 – Santa Bárbara)], e o **grupo 5** com dois acessos [‘Tendas’ (BFT021 – Cabaceiras do Paraguaçu) e ‘Brandão’ (BFT022 – Itaberaba)].

Esses resultados refletem a grande variabilidade genética dos acessos estudados, tanto intra como intergrupos. Tem sido reportada na literatura a possibilidade de espécies tradicionalmente multiplicadas via assexuado, caso da umbu-cajazeira, apresentarem-se mais uniformes em localidades próximas, desde quando genótipos com características superiores passam a ser cultivados de forma preferencial pelos agricultores, sendo difundidos, chegando a dominar em determinadas localidades. No entanto, mesmo em áreas próximas, constata-se

a existência de considerável diversidade que não deve ser apenas reflexo de efeito ambiental, mas de origem genética, provavelmente em virtude da ocorrência de reprodução sexuada (CARVALHO, 2006; SOUZA, 2008), ou da manifestação de mutações naturais.

A existência de híbridos entre as *Spondias*, em condições naturais, apresentando caracteres intermediários entre algumas espécies do gênero, indica não apenas a viabilidade de cruzamentos naturais, mas também a presença de fracas barreiras de incompatibilidade dentro do gênero (SOUZA, 2008).

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

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

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

FONTE: Dados da pesquisa.

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

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

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

FONTE: Dados da pesquisa.

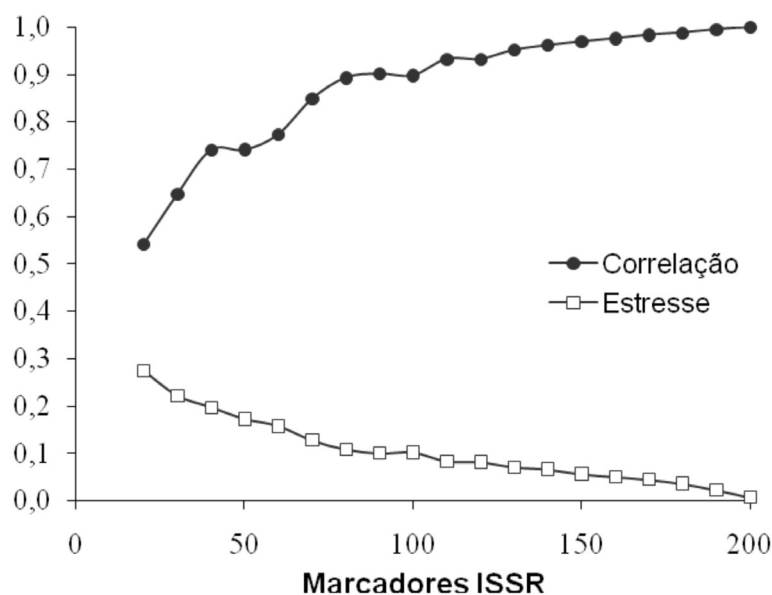


FIGURA 1 - Análise de reamostragem para uma precisa estimativa da variabilidade genética em acessos de umbu-cajazeira (*Spondias* sp.), por meio de marcadores ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*). Cruz das Almas-BA, 2009.

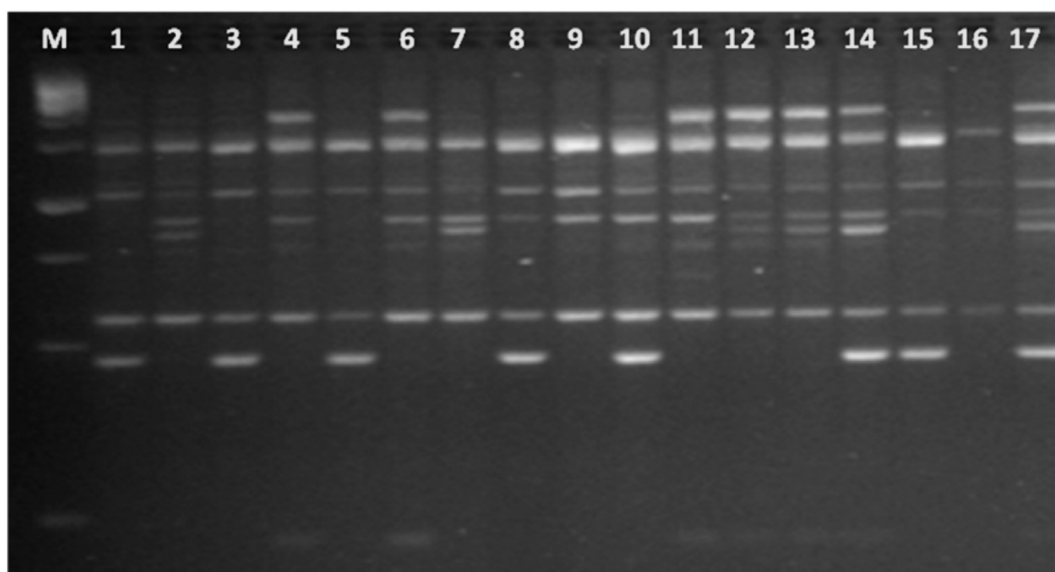


FIGURA 2 - Produtos da amplificação ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) de 17 acessos de umbu-cajazeira (*Spondias* sp.) gerados pelo iniciador TriCGA3'RC. M = marcador de peso molecular (Ladder 100 pb New England); 1= Suprema; 2= Ouro; 3= Princesa; 4= Esperança; 5= Pomar; 6= Aurora; 7= Primavera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

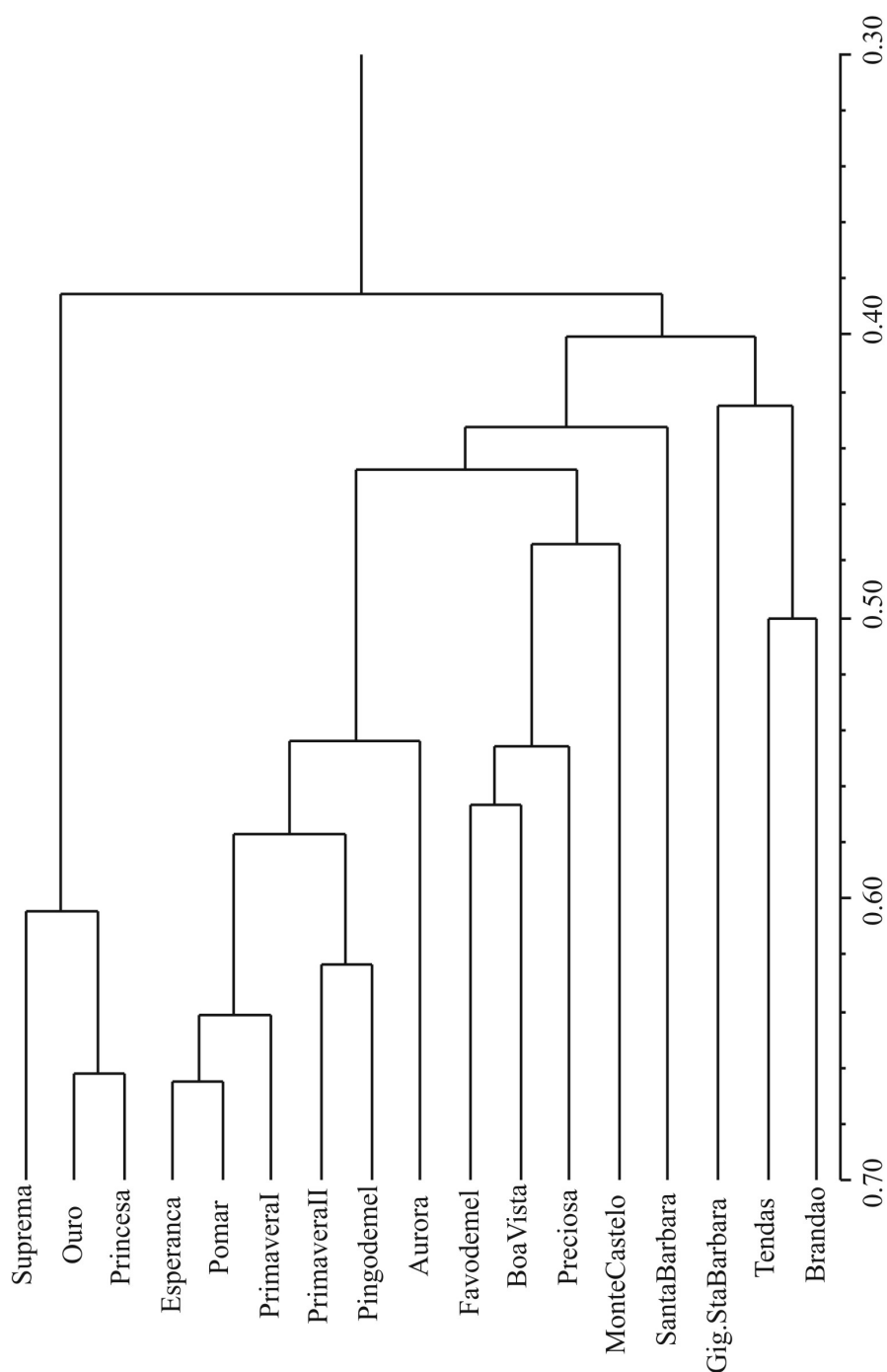


FIGURA 3 - Dendrograma representativo da divergência genética entre os 17 acessos de umbu-cajazeira (*Spondias* sp.), obtido pelo método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*), utilizando o complemento aritmético do índice de Jaccard como medida de dissimilaridade, com base em marcadores ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*). Cruz das Almas - BA, 2009. Valor cofenético = 0,83.

CONCLUSÕES

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

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

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado; ao Sr. Epaminondas do Patrocínio, técnico do Laboratório de Virologia e Biologia Molecular da Embrapa Mandioca e Fruticultura, pelos ensinamentos práticos.

REFERÊNCIAS

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

CARDONA, J. O. Análisis de diversidad genética de las razas colombianas de maíz a partir de datos Roberts *et al.*, (1957) usando la estrategia Ward-WLM. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 2, n.1, p. 199-207, 2010.

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

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

CRUZ, C.D.; SCHUSTER, I. **GQMOL**: aplicativo computacional para análise de dados moleculares e suas associações com caracteres quantitativos: versão 2.1. Viçosa: UFV, 2004.

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

FREITAS, M. L. M.; AUKAR, A. P. de A.; SEBEN, A. M.; MORAES, M. L. T. de; LEMOS, E. G. M. Variabilidade genética intrapopulacional em *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. Por marcador AFLP. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, n. 68, p. 21-28, ago.2005.

GHARIANI, S.; TRIFI-FARAH, N.; CHAKROUN, M.; MARGHALI, S.; MARRAKCHI, M. Genetic diversity in Tunisian perennial ryegrass revealed by ISSR markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Berlin, v.50, n. 8, p.809-815, 2003.

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

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

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

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

ROHLF, F. J. **NTSYS pc**: numerical taxonomy and multivariate analysis system. New York: Exeter Software, 2000.

ROSSATO, M.; BARBIERI, R. L.; SCHÄFER, A.; ZACARIA, J. Caracterização molecular de populações de palmeiras do gênero *Butia* do Rio Grande do Sul através de marcadores ISSR. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 19, n. 4, p.311-318, 2007.

SANTOS, C. A. F. **Zoneamento agroecológico do Nordeste e mapas de vegetação como ferramentas para a prospecção e conservação de recursos genéticos vegetais**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2007. 24 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 73).

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

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

VAZ PATTO, M.C.; SATOVIC, Z.; PÊGO, S.; FEVEREIRO, P. Assessing the genetic diversity of Portuguese maize germoplasm using microsatellite markers. **Euphytica**, Wageningen, v.137, n.1, p.63-72, 2004.

UYSAL, H.; YONG-BI, F.; KURT, O.; PETERSON, G. W.; DIEDERICHSEN, A. Genetic diversity of cultivated flax (*Linum usitatissimum* L.) as revealed by ISSR markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v.57, n. 7, p. 1109-1119, 2010.