

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA**

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DO BANCO
ATIVO DE GERMOPLASMA DE MANGABEIRA**

TATIANA SANTOS COSTA

**SÃO CRISTÓVÃO
2010**

TATIANA SANTOS COSTA

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DO BANCO ATIVO DE
GERMOPLASMA DE MANGABEIRA**

Dissertação apresentada ao Núcleo de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia na área de concentração Biotecnologia em Recursos Naturais.

Orientadora
Profa. Dra. Ana Veruska Cruz da Silva

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE - BRASIL
2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Costa, Tatiana Santos

C837d Diversidade genética de acessos do banco ativo de germoplasma de mangabeira / Tatiana Santos Costa. – São Cristóvão, 2010.

31 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia em Recursos Naturais) – Núcleo de Pós-Graduação em Biotecnologia, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, Universidade Federal de Sergipe, 2010.

Orientador: Prof^a Dr^a Ana Veruska Cruz da Silva.

1. Biotecnologia. 2. Genética molecular. 3. *Hancornia speciosa* Gomes. I. Título.

CDU 601.4:577.21:582.923.5

TATIANA SANTOS COSTA

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DO BANCO ATIVO DE
GERMOPLASMA DE MANGABEIRA**

Dissertação apresentada ao Núcleo de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia na área de concentração Biotecnologia em Recursos Naturais.

APROVADA em 06 de agosto de 2010.



Profa. Dra. Ana da Silva Léo – Embrapa Tabuleiros Costeiros/UFS



Profa. Dra. Gilmara Mabel Santos - Universidade Federal Rural de Pernambuco



Profa. Dra. Ana Veruska Cruz da Silva
Embrapa Tabuleiros Costeiros/UFS
(Orientadora)

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE-BRASIL

Dedico este trabalho
Aos meus pais, em retribuição ao apoio incondicional.
À minha avó Odete pelos incentivos e todo carinho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela presença constante em minha vida.

À Professora Dr^a. Ana Veruska Cruz da Silva, pela orientação fornecida neste trabalho, participando efetivamente de todas as etapas e decisões, por todos os conhecimentos transmitidos, pelo suporte, confiança, dedicação, paciência, amizade, oportunidades e todo o carinho. Enfim, por todas as contribuições para o meu crescimento profissional e pessoal.

À Dr^a. Ana da Silva Lédo, pela confiança ao me acolher, pela ajuda em todas as horas necessitadas, carinho e amizade.

Ao Dr. Leandro Eugênio C. Diniz, pela prestatividade e ajuda, prestados.

Aos meus amigos do Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Tabuleiros Costeiros – Karla, Gilvânia, Julie, Grazi, Lucas, Katily e Sílvia, pela ajuda, incentivo e paciência. Em especial, as minhas companheiras de sempre: Cassia e Camilinha, pela companhia, carinho e amizade sincera. O convívio com vocês além de maravilhoso foi significativo para a conclusão de todo o trabalho.

Aos funcionários da Embrapa Tabuleiros Costeiros, pelo respeito, atenção e dedicação ao qual me trataram durante esse tempo. Em especial à Seu Erivaldo e aos meninos da Reserva do Caju, pela grande ajuda fornecida, e à Liliane por toda a simpatia e afeto.

À Allívia, por toda a ajuda, paciência, doçura e prestatividade. Realmente, Deus sempre põe anjos em nossas vidas.

Aos meus familiares pela torcida, tios, tias, primos e primas, em especial aos meus pais e irmãos e à minha vovó Odete pela paciência, confiança e acima de tudo amor sem limites. Sem esquecer de minhas duas afilhadas “malas”, que estavam sempre à minha disposição.

À minha princesinha Maria Luiza, pelo amor, dedicação e companheirismo nas madrugadas de estudo.

Aos meus amigos do Mestrado em Biotecnologia, pela amizade sincera, pela transmissão dos conhecimentos, por todo o companheirismo e pela grande torcida. Em especial à Dani, Marília, Jéssika, Kícia, Aline, Márcio, Luciana, Thatiana, Sílvio e Paulo. Sem vocês as aulas na Biotec não teriam sentido.

Aos meus eternos amigos da graduação: Márcia, Rodrigo, Franklin, Dani, Claudemir, Ivan, Neidinha, Katy e Juliano. Por se fazerem sempre presentes nas etapas mais importantes e divertidas da minha vida.

À Professora Dr^a. Silmara de Moraes Pantaleão, por toda a confiança e afeto depositados desde a época da graduação.

Ao Sergipetec/CNPQ, pela bolsa concedida.

E a todos que, de alguma forma, contribuíram para o sucesso deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DA LITERATURA	02
2.1. Aspectos Gerais da Mangabeira	02
2.2. Bancos de Germoplasma	05
2.3. Marcadores Moleculares RAPD	06
3. MATERIAL E MÉTODOS	08
3.1. Material Vegetal	08
3.2. Extração de DNA	09
3.3. Quantificação do DNA	10
3.4. Teste de <i>Primers</i>	11
3.5. Amplificação do DNA	11
3.6. Eletroforese e Visualização dos fragmentos	12
3.7. Número ótimo de bandas	12
3.8. Análise dos Resultados	12
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
4.1. RAPD	14
4.2. Número ótimo de bandas	15
4.3. Estrutura genética	16
4.4. Diversidade genética	18
4.4.1. Entre populações	18
4.4.2. Entre indivíduos	20
5. CONCLUSÕES	26
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

LISTA DE ABREVIATURAS

ACoP = Análise de Coordenadas Principais
AMOVA = Análise de Variância Molecular
BAG = Banco Ativo de Germoplasma
BGMangaba = Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira
CPATC = Centro de Pesquisa Agropecuária dos Tabuleiros Costeiros
CTAB = Brometo de Cetiltrimetilamônio
DNA = Ácido Desoxirribonucléico
dNTP = Desoxinucleotídeos Trifosfato
DSGM = Dissimilaridade Genética Média
Embrapa = Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Emepa = Empresa Estadual de Pesquisa da Paraíba
IBGE = Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MgCl = Cloreto de Magnésio
PCR = Reação em Cadeia de Polimerase
RAPD = Polimorfismo de DNA Amplificado ao Acaso
RPM – Rotações por Minuto
SGM = Similaridade Genética Média
SSR = Sequências Simples Repetidas
TBE = Tris-borato 90 mM, EDTA 1 mM, pH 8,0
TE = Tris-HCl 10 mM, pH. 8,0; EDTA 1mM
UPGMA = Método da Média Aritmética Não Ponderada
UFG = Universidade Federal de Goiás
UFS – Universidade Federal de Sergipe

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Árvore de Mangabeira	03
Figura 2 - (A) Formato das folhas e (B) disposição dos ramos na planta. BAG Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros	03
Figura 3 - Frutos de mangaba	04
Figura 4 - Acessos pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira. A - Barra do Itariri (BA); B - Lagoa Grande (BA); C - Paratibe (PB); D - Água Boa (PA); E - Ipiranguinha (BA); F - Alhandra (PB)	08
Figura 5 - Regiões de ocorrência de mangabeira (em verde) e pontos de coleta dos acessos inseridos no BGMangaba	09
Figura 6 – Quantificação das amostras de DNA, (A) referente a primeira e a segunda extração; (B) referente a terceira extração. Indivíduos PA1 a PA5: acesso Paratibe; GX2: acesso Guaxinduba; AD1 a AD6: acesso Alhandra; IP1 a IP6: acesso Ipiranguinha; AB1 a AB6: acesso Água Boa; CA1 a CA6: acesso Costa Azul; PT1 a PT6: acesso Pontal; PR1 a PR6: acesso Preguiça; TC1 a TC6: acesso Terra Caída; LG1 a LG6: acesso Lagoa Grande; BI1 a BI6: acesso Barra do Itariri; M: marcador de peso molecular de 1Kb	10
Figura 6 - Padrões de bandeamento de fragmentos de DNA amplificados por RAPD de acessos do Banco Ativo de Germoplasma de mangabeira, utilizando-se o primer IDT 09. 1-5: acesso Paratibe; 6: acesso Guaxinduba; 7-10: acesso Alhandra; 11-14: acesso Ipiranguinha; 15-20: acesso Água Boa; 21-25: acesso Costa Azul; 26-31: acesso Pontal; 32-37: acesso Preguiça; 38-43: acesso Terra Caída; 44-49: acesso Lagoa Grande; 50-55: acesso Barra do Itariri. (M) Marcador com padrão de peso molecular 1 Kb; (CN) controle negativo	14
Figura 7 - Coeficiente de correlação (r) e o valor de estresse (E) com o número de fragmentos obtidos para 55 indivíduos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros	16
Figura 8 - Representação filogenética do agrupamento UPGMA estimado a partir da similaridade genética do coeficiente de Nei (1978) para os 11 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de mangabeira	19
Figura 9 - Análise de Coordenadas Principais (ACoP) entre acessos do Banco Ativo de Germoplasma de mangabeira da Embrapa Tabuleiros	20
Figura 10 - Representação filogenética do agrupamento UPGMA estimado a partir da similaridade genética do coeficiente de Jaccard (1908), e análise Bootstrap (10.000x) para 55 indivíduos dos 11 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de mangabeira	23
Figura 11 - Análise de Coordenadas Principais (ACoP) para indivíduos do Banco Ativo de Germoplasma de mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Identificação dos genótipos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros.	08
Tabela 2 - Relação dos iniciadores de síntese (primers) testados para estudo da diversidade genética em germoplasma de mangabeira utilizando marcadores RAPD.	11
Tabela 3 - Relação dos primers selecionados, com suas respectivas sequências, para estudo da diversidade genética em germoplasma de mangabeira utilizando marcadores RAPD.	14
Tabela 4 - Número de fragmentos gerados pelas reações de RAPD em estudo de diversidade genética em germoplasma de mangabeira.	15
Tabela 5 - Análise de Variância Molecular (AMOVA) de 54 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de mangabeira, com os dados fornecidos pela técnica RAPD.	16
Tabela 6 - Número de alelos (N_a); Número efetivo de alelos (N_e); Índice de Shannon (H) e Heterozigosidade esperada (H_e) em estudo da diversidade genética do Banco Ativo de Germoplasma de mangabeira, utilizando marcadores RAPD.	17
Tabela 7 - Matriz de dissimilaridade genética do coeficiente de Nei (1978) (abaixo da diagonal) e erro estimado (acima da diagonal) obtidos utilizando 13 iniciadores de síntese (primers) pela técnica RAPD entre 55 indivíduos do Banco Ativo de Germoplasma de mangabeira.	18
Tabela 8 - Matriz da similaridade genética do coeficiente de Jaccard (1908) (abaixo da diagonal) e erro estimado (acima da diagonal) obtidos utilizando 13 <i>primers</i> pela técnica RAPD entre 55 indivíduos dos 11 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros.	21
Tabela 8 (continuação) - Matriz da similaridade genética do coeficiente de Jaccard (1908) (abaixo da diagonal) e erro estimado (acima da diagonal) obtidos utilizando 13 <i>primers</i> pela técnica RAPD entre 55 indivíduos dos 11 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros.	22

RESUMO

COSTA, Tatiana Santos. **Diversidade genética do banco ativo de germoplasma de mangabeira**. Sergipe: UFS, 2010. 31p. (Dissertação - Mestrado em Biotecnologia)

Devido à grande importância social, econômica e cultural que a mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) representa, bem como a intensa devastação das áreas onde ocorre naturalmente, foi implantado em 2006, o Banco Ativo de Mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros (BAG Mangaba), em Itaporanga d'Ajuda, SE. Os Bancos de Germoplasma (BAGs) reúnem constituições genéticas de diferentes origens e representam fontes de genes para programas de melhoramento. Para tanto, é fundamental que o melhorista conheça a variabilidade genética do germoplasma disponível. O objetivo deste estudo foi estimar a variabilidade genética de 55 acessos do BAG Mangaba utilizando marcadores RAPD (Polimorfismo de DNA amplificado ao acaso). Foram usados 13 iniciadores de síntese (*primers*), que geraram 82 fragmentos (bandas), sendo 72 polimórficos, os quais foram analisados como dados binários. A partir desses dados foi obtida uma matriz de similaridade utilizando o coeficiente de Jaccard. Com esse coeficiente e com o método aglomerativo UPGMA foram realizadas análises de agrupamento utilizando os programas FreeTree; TreeView e XLSTAT e um método de reamostragens (*bootstraps*), gerou dendrogramas que permitiu a distinção genética entre os acessos. A similaridade variou entre 0,02 e 0,91. Os indivíduos mais similares foram CA4 e CA5 e mais divergentes foram IP6 e PR4. A partir do nível SGM foram detectados que os pares de indivíduos CA4 e CA5; CA1 e CA2; PT2 e PT3 são considerados similares (duplicatas). Por meio do Agrupamento UPGMA e ACoP foi possível identificar seis grupos. O alto nível de polimorfismo observado (95%) sugere que os marcadores RAPD são uma ferramenta adequada para detectar diferenças genéticas entre acessos de mangabeira, auxiliando futuros programas de melhoramento da espécie.

Palavras-Chave: Marcadores Moleculares; recursos genéticos; RAPD; variabilidade genética.

Orientador: Ana Veruska Cruz da Silva – Embrapa Tabuleiros Costeiros / Universidade Federal de Sergipe

ABSTRACT

COSTA, Tatiana Santos. Genetic diversity of accessions of the germplasm bank of mangabeira. Sergipe: UFS, 2010. 49p. (Dissertation – Master in Biotechnology)

Due to the great social, economic and cultural context which Mangabeira (*Hancornia speciosa*) represents, as well as the intense devastation of the areas where it occurs naturally, was implemented in 2006, the Active Bank Mangabeira Embrapa Tabuleiros Costeiros (BAGMangaba) in Itaporanga d'Ajuda, SE. The Genebank (bags) gather genetic constitutions of different backgrounds and represent sources of genes for breeding programs. Therefore, it is essential that the breeder knows the genetic diversity of germplasm available. The aim of this study was to estimate the genetic variability of 55 accessions of BAG Mangaba RAPD markers (Polymorphic DNA Randomly Amplified). 13 primers were used for synthesis (primers), which generated 82 fragments (bands), 72 polymorphic, which were analyzed as binary data. From these data yields a similarity matrix using Jaccard's coefficient. With this coefficient and the UPGMA method agglomerative cluster analysis were performed using the programs FreeTree; TreeView and XLSTAT and a method of resampling (bootstraps) generated dendrograms that used to distinguish among the accessions. The similarity ranged from 0.02 to 0.91. Individuals were more similar CA4 and CA5 and more divergent lining IP6 and PR4. From the SGM were detected at the pair of individuals and CA5 CA4, CA1 and CA2, PT2, and PT3 are considered similar (clones). Through Clustering UPGMA and PCoA was possible to identify five groups. The high level of polymorphism (95%) suggests that RAPD markers are a useful tool to detect genetic differences among accessions of *H. speciosa*, assisting in a future program to improve the species.

Key-words: Molecular markers, genetic resources, RAPD, genetic variability

Major professor: Ana Veruska Cruz da Silva – Embrapa Tabuleiros Costeiros / University Federal de Sergipe /

1. INTRODUÇÃO

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) é uma frutífera nativa do Brasil, da família das Apocináceas, de grande importância social, econômica e cultural nas áreas onde ocorre. Em Sergipe, maior produtor, a mangaba é a fruta-símbolo do Estado, e significa em tupi-guarani, “coisa boa de comer”.

O cultivo da espécie é essencialmente extrativista e, salvo algumas raras exceções, não existem pomares organizados ou implantados com a finalidade de exploração racional para a produção de frutos (GANGA, 2008). Esclarecimentos sobre desenvolvimento e variação genética são fundamentais para espécies nativas. A domesticação e incorporação dessas espécies nos sistemas produtivos regionais, bem como o desenvolvimento de estratégias de conservação eficientes estão estreitamente relacionadas ao conhecimento da magnitude e distribuição da variabilidade genética nas populações naturais.

Os Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) são uma alternativa para a conservação dos recursos genéticos vegetais. A avaliação da diversidade genética entre os acessos de um BAG resulta em informações de potenciais genitores a serem utilizados em programas de melhoramento, possibilita a identificação de duplicatas e o intercâmbio de germoplasma entre pesquisadores e, de acordo com Nass (2007), constituem formas de conciliar os esforços da conservação da agrobiodiversidade com o desenvolvimento sustentável. Com esse intuito, foi instalado em 2006, na Embrapa Tabuleiros Costeiros (CPATC), o BGMangaba, que se tornou objeto de estudo permanente na área de Recursos Genéticos.

O conhecimento do grau de variabilidade genética, por meio dos estudos de divergência, é fundamental no processo de identificação de novas fontes de genes de interesse. Dentre as formas para avaliar essa diversidade encontram-se a caracterização molecular, segundo a qual, a partir de marcas genéticas, indiferentes às interferências ambientais, é possível inferir sobre o grau de diversidade entre indivíduos e entre populações.

Marcadores moleculares têm sido amplamente utilizados na caracterização de germoplasmas, principalmente por fornecer informações sobre a variabilidade genética ao nível do DNA eliminando possíveis efeitos ambientais. Para que variedades cultivadas sejam constituídas, é necessário que haja diversidade genética suficiente, capaz de selecionar indivíduos que possam ser utilizados em programas de melhoramento. Por isso, o estudo dos componentes da variabilidade da espécie reveste-se de grande importância, especialmente para espécies nativas ainda pouco estudadas, cuja magnitude da diversidade é desconhecida.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade genética de acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros, através do estudo da caracterização molecular.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos Gerais da Mangabeira

A mangabeira é uma espécie frutífera, tropical e nativa do Brasil. Foi uma das espécies frutíferas pioneiras no relato dos exploradores da costa brasileira do século XVI (SILVA JUNIOR & LEDO, 2006), sendo bastante apreciada até hoje pelas populações regionais, em detrimento das características organolépticas de seus frutos (SILVA JUNIOR, 2004).

Pertence ao grupo das Eudicotiledoneas, ordem *Gentianales*, família *Apocynaceae* e à espécie *Hancornia speciosa* Gomes, que é monotípica e compreende a seis variedades: *H. speciosa* var. *speciosa*, *H. speciosa* var. *maximiliani*, *H. speciosa* var. *cuyabensis*, *H. speciosa* var. *lundii*, *H. speciosa* var. *gardneri* e *H. speciosa* var. *pubescens*. (SOARES et al., 2009; MONACHINO, 1945).

De acordo com as estatísticas da extração vegetal do Brasil (IBGE, 2010), a produção em 2008 foi equivalente a 711 toneladas, sendo quase sua totalidade oriunda da região Nordeste. Sergipe é o maior produtor com 397 toneladas seguido pela Bahia e Rio Grande do Norte. A conquista de novos mercados está condicionada à implantação de pomares comerciais, pois a produção atual não atende à demanda do mercado consumidor local.

Típica de solos arenosos, ácidos e pobres em nutrientes, a mangabeira é encontrada na ampla vegetação do ecossistema do Cerrado, principalmente nas Regiões Norte, Sudeste e Centro-Oeste e na Faixa Litorânea Nordestina da Região dos Tabuleiros Costeiros (VIEIRA NETO, 2009). Oriunda predominantemente do extrativismo praticado pelas mulheres, a mangaba é item de consumo fundamental da população litorânea nordestina (MOTA et al., 2008).

As áreas em que se pratica o cultivo tecnificado de mangabeira são quase inexistentes, exceção se faz para algumas poucas que ocorrem em Sergipe e Paraíba (SILVA JUNIOR, 2004), que utilizam técnicas de enxertia, cultura de tecidos e propagação. Sá (2009) empregou técnicas de cultura de tecidos para a propagação assexuada e conservação de mangabeira de populações nativas de áreas litorâneas do Nordeste do Brasil.

Normalmente propagada por sementes, a mangabeira inicia sua produção entre o terceiro e o quinto ano após o plantio (SILVA JUNIOR, 2004), podendo proporcionar produtividade de até 12 toneladas por hectare, dependendo das condições de clima, solo e do manejo adotado. Segundo Ferreira & Marinho. (2007), para as mangabeiras da Zona da Mata Paraibana, o processo de floração geralmente ocorre durante o período de agosto à novembro, com pico em outubro e a frutificação concentra-se principalmente de dezembro a março e de junho a outubro. Esse ciclo ocorre em praticamente em todo o Nordeste.

É uma árvore de porte médio (Figura 1), possui de 2 a 10 m de altura, podendo chegar a até 15 m. Em geral apresenta copa irregular, troncos tortuosos, bastante ramificados e ásperos, com ramos lisos e avermelhados até um ano de idade (SOARES et al., 2007). Toda a planta exsuda látex de cor branca ou róseo-pálida. (MONACHINO, 1945).



Figura 12 - Árvore de Mangabeira. (Foto: Ana Veruska Cruz da Silva, 2009)

As folhas da mangabeira são opostas, simples, pecioladas, glabras, brilhantes e coriáceas, de formato elíptico (Figura 2), e varia de 5 a 6 cm de comprimento e 2 cm de largura (FERREIRA & MARINHO, 2007). Sua inflorescência apresenta de uma a sete flores hermafroditas, perfumadas e de coloração branca. Apresenta um longo e estreito tubo floral, as anteras localizam-se na região apical e não são fundidas, sendo polinizada por várias espécies de insetos lepidópteros (DARRAULT & SCHLINDWEIN, 2005).



Figura 2 – (A) Formato das folhas e (B) Disposição dos ramos na planta. BAG Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros. (Fotos: Tatiana Santos Costa, 2010)

O fruto do tipo baga é elipsóide ou arredondado (Figura 3), com 2,0 a 6,0 cm, exocarpo amarelo, com manchas avermelhadas, polpa bastante doce e com aroma muito agradável, carnosos-viscosa e ácida (SOARES et al., 2007).



Figura 3 - Frutos de mangaba. (Foto: Ana Veruska Cruz da Silva, 2009)

Cada fruto contém geralmente de duas a dez sementes discóides delgadas e rugosas, de coloração castanho-clara, medindo de sete a oito milímetros de diâmetro (NARAIN et al., 2007; ROSA et al., 2005). Os frutos são bastante apreciados devido ao sabor exótico característico, da elevada acidez e do alto conteúdo de sólidos solúveis (SOARES et al., 2007).

Além do consumo *in natura*, seu maior aproveitamento se dá sob as formas processadas de polpa congelada, suco engarrafado, sorvetes, doces, licores e geléias. Em Sergipe, o fruto é importante matéria-prima para a agroindústria de frutos tropicais (MOTA et al., 2008), sendo a polpa congelada da mangaba, a mais comercializada no Estado. A polpa apresenta valor nutritivo considerável, com teor protéico superior ao da maioria das espécies frutíferas (FERREIRA & MARINHO, 2007). Dentre os elementos encontrados em sua composição, destacam-se as vitaminas A, B1, B2 e C, além de ferro, fósforo e cálcio. O valor energético, em cada 100 g de fruta, é de 43 calorias (SOARES et al., 2007).

Em detrimento aos conhecimentos herdados dos povos indígenas e negros, que habitaram o Brasil durante o período colonial, a mangabeira também é utilizada pela medicina popular (BRASIL, 2002). Além da polpa, outras partes da planta são utilizadas pelas populações locais: a casca tem propriedades adstringentes e o látex é empregado contra a tuberculose, úlceras, herpes, dermatoses e verrugas. Além disso, Soares et al. (2007), mencionaram a utilização do chá da folha para o combate à cólica menstrual e, do decocto da raiz, para tratar luxações e hipertensão arterial. Moraes et al (2008), comprovaram a eficiência de extratos hidro-alcólicos e infusões de mangabeira como importantes agentes combatentes de úlcera gástrica, pois estimulam a síntese de agentes mucilógenos na mucosa gástrica, e no combate às ações da bactéria *Helicobacter pylori*.

O elevado teor de ferro (28 mg/100 g de polpa) no fruto faz com que a mangaba seja uma das frutas mais ricas neste nutriente, além de ser fonte de ácido ascórbico. De onde decorre a importância atribuída a ela na cura de algumas doenças e, em particular, contra a febre. A árvore é ainda, melífera e ornamental (SOARES et al., 2007), sua madeira é empregada na carpintaria, na confecção de caixas, lenha e carvão (SALOMÃO et al., 2004).

As sementes da mangaba são recalcitrantes, podendo ser semeadas até quatro dias após a sua extração, logo após, diminuem sua atividade ao sofrerem desidratação em

torno de 30% (SALOMÃO et al., 2004). O plantio no local definitivo deve ser feito quando as mudas estiverem com tamanho entre 15 a 20 cm de altura, no início da estação chuvosa, em espaçamento variando de 6 X 4 m a 6 X 5 m. (SOARES et al., 2007).

2.2 Bancos de Germoplasma

Considerado parte essencial da biodiversidade, o recurso genético é utilizado pelo homem para a promoção do desenvolvimento sustentável da agricultura e produção de alimentos. Os recursos que são utilizados em pesquisas de melhoramento genético e biotecnologia e, que são responsáveis pelo manejo da variabilidade dentro de cada espécie, designa-se germoplasma. Segundo Allard (1971) germoplasma também pode ser definido como a soma total de materiais de uma espécie, sejam eles representados sob a forma de plantas, tecidos, sementes ou estruturas mais simples.

Para espécies que apresentam sementes recalcitrantes, que é o caso da mangabeira, as técnicas convencionais, como conservação em câmaras frias, são inviáveis (ALVES, 2002), sendo de fundamental importância a implantação, conservação e avaliação do germoplasma em campo.

Também como uma estratégia de combate a erosão genética de espécies nativas, pesquisadores se empenham em metodologias para conservação dos germoplasmas. A conservação *ex situ* é a mais utilizada, que se fundamenta na conservação das espécies a campo, fora do lugar de origem, em Bancos de Germoplasma. De acordo com Brondani (2006), com a implantação de um BAG, a variabilidade genética não somente é conservada, como pode ser ampliada, com a introdução constante de novos acessos e/ou cultivares, oriundos de programas de melhoramento e de áreas de ocorrência. A diversidade adquirida com esse procedimento possibilita o surgimento de novas combinações alélicas, bem como de adaptações a ambientes específicos, resultando em vantagens para a espécie.

Os primeiros germoplasmas a serem introduzidos num BAG brasileiro em 1970 foram da maçã e do marmelo, oriundos da Inglaterra. Na Embrapa, a implantação de coleções de recursos vegetais para fins de conservação ocorreu por volta de 1981 e, teve o apoio financeiro do Banco Mundial. Atualmente, cerca de 116 bancos de germoplasma existem no país, englobando 152 gêneros e 221 espécies vegetais. Dos 250 mil acessos que estão conservados, aproximadamente 76% são de espécies exóticas e 24% de espécies autóctones (NASS, 2007).

No Nordeste brasileiro existem aproximadamente 21 BAGs, que conservam aproximadamente 15 mil acessos de várias espécies (NASS, 2007), destacando-se as frutíferas. Atualmente existem sete BAGs de mangabeira sob responsabilidade da Embrapa Amapá (86 acessos); Embrapa Cerrados (15 acessos); Embrapa Meio Norte (39 acessos); Embrapa Tabuleiros Costeiros (11 acessos); Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba - Emepa (540 acessos); Universidade Federal de Alagoas (20 acessos) e Universidade Federal de Goiás (57 acessos) (RAMOS et al., 2008; GANGA, 2008).

As atividades que caracterizam um BAG são identificadas pelas fases sequenciais envolvidas na manutenção de recursos genéticos, como coleta, multiplicação, caracterização, avaliação e conservação (GIACOMETTI, 1988).

Estudos de caracterização têm possibilitado a indicação de alguns descritores em mangabeira, como o realizado por Silva et al. (2008), que relatou a primeira avaliação morfológica do BAG Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros. A Emepa vem realizando há mais de quinze anos a caracterização morfológica e fenológica (ARAÚJO et al., 2003), e já disponibilizou 10 acessos com características agrônomicas superiores para cultivo comercial. No Cerrado, Ganga (2008) avaliaram progênies do BAG da UFG e verificaram que as variedades botânicas *cuyabensis* e *gardineri* apresentaram maior desenvolvimento em campo, de acordo com características morfoagronômicas.

2.3 Marcadores Moleculares RAPD

Os marcadores moleculares são ferramentas úteis que auxiliam na conservação e caracterização de recursos genéticos, e podem nortear um programa de melhoramento. De acordo com Silva (2004), esses marcadores superam as dificuldades encontradas nas caracterizações morfológicas, fenológicas e organolépticas, podendo-se reconhecer diretamente as diferenças genéticas entre indivíduos, obtendo-se um perfil molecular (*fingerprinting*) característico para cada genótipo, variedade ou cultivar.

Cada indivíduo possui em seu genoma sequências específicas, de herança simples, responsáveis pela sua identidade. Essas marcas podem ser encontradas a nível de genes ou de genótipos. Para o estudo da diversidade existente entre indivíduos é necessário identificar as marcas moleculares que são peculiares de cada organismo, ou de uma determinada população. Para tal, a técnica mais utilizada é a PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) (SUNNUCKS, 2000).

Entre os marcadores moleculares baseados em PCR, a técnica RAPD (Polimorfismo de DNA Amplificado ao Acaso), tem sido muito empregada na análise de diversidade genética de populações naturais, bem como na caracterização de germoplasma. Esta técnica utiliza oligonucleotídeos iniciadores de síntese (*primers*) de sequência arbitrária, que tendem a produzir uma frequência relativamente alta de polimorfismo, sendo um método rápido e eficiente (FAIRBANKS et al., 1993). Com a ajuda de métodos estatísticos apropriados, a técnica RAPD tem sido efetiva em detectar a diversidade de populações em vários tipos de organismo (CHEN et al., 1995). O processo ocorre através de ciclos contínuos de desnaturação e amplificação das fitas de DNA, mediados pela enzima Taq DNA polimerase em pontos específicos do genoma, determinado pelo anelamento de *primers* de sequências complementares a estes pontos. As diferenças ao nível de DNA são determinadas pela presença ou ausência de um fragmento amplificado (BERED, 1997).

Apesar do caráter dominante (não diferenciam entre heterozigotos e homozigotos), o RAPD é polimórfico e de menor custo quando comparado com outros marcadores, apresentando menor número de etapas, e, conseqüentemente, consumindo menos tempo para obtenção dos resultados, além de necessitar de pouco material genético e de serem livres de interferências ambientais (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998).

Podem ser aplicados na quantificação da divergência genética entre as populações nativas remanescentes, auxiliando no resgate de acessos das populações ameaçadas de extinção, na determinação de populações com alta variabilidade genética, na determinação de distâncias genéticas entre populações naturais, bem como na caracterização da variabilidade genética de acessos de bancos de germoplasma (SILVA, et al., 2006).

No estudo da estrutura genética de populações de mangabeiras do cerrado brasileiro, com o uso de marcadores RAPD, Moura et al. (2005) obtiveram resultados satisfatórios, enfatizando a eficiência destes marcadores para o estudo da diversidade genética de espécie.

Utilizando marcadores RAPD e SSR (Sequências Simples Repetidas) na análise da diferenciação genética entre procedências de açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart), oriundos do banco de germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental, Oliveira et al. (2008) obtiveram resultados satisfatórios tanto para o RAPD quanto para SSR.

Estudando a variabilidade genética de acessos de maracujá-suspiro mantidos no BAG da Embrapa Cerrados, Junqueira et al. (2007) obtiveram alta variabilidade genética dos acessos, confirmando que o RAPD é uma técnica eficiente para o trabalho.

A eficácia do uso do RAPD na avaliação da diversidade genética de 78 acessos de tomate (*Solanum lycopersicum*), pertencentes ao BAG da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), foi relatada por Gonçalves et al. (2008). Os autores obtiveram correlação positiva e significativa entre os marcadores RAPD e os 27 descritores quantitativos.

No estudo da diversidade genética de genótipos de alho, mantidos no BAG da estação experimental da Epagri, em Santa Catarina, Vieira & Nodari (2007) relataram a eficácia da técnica de RAPD, pela determinação de alto polimorfismo, diferentemente das análises de características morfológicas e isoenzimas, anteriormente investigadas, que não alcançaram resultados satisfatórios.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material Vegetal

O Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira (BGMangaba) da Embrapa Tabuleiros Costeiros está situado no Campo Experimental de Itaporanga, no município de Itaporanga d'Ajuda, Sergipe (11°06'40"S e 37°11'15"W). A área é típica da restinga, cujo solo é do tipo espodossolo humilúvico. Implantado em novembro de 2006, o BGMangaba é composto por 11 acessos, totalizando 55 indivíduos, propagados por semente e plantadas no espaçamento de 7 m x 6 m. Os acessos foram coletados nos estados da Bahia, Pará, Paraíba e Sergipe, colhidos ao acaso, ou de populações ameaçadas para cada região (Tabela 1; Figura 4).

Tabela 1 – Identificação dos genótipos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros. Itaporanga d'Ajuda, SE. 2010.

Acesso	Procedência	Local de Coleta
01 (PA)	Paratibe	João Pessoa (PB)
02 (GX)	Guaxinduba	Conde (PB)
03 (AD)	Alhandra	Mata Redonda (PB)
04 (IP)	Ipiranguinha	Conde (BA)
05 (AB)	Água Boa	Salvaterra (PA)
06 (PT)	Pontal	Indiaroba (SE)
07 (PR)	Preguiça	Indiaroba (SE)
08 (TC)	Terra Caída	Indiaroba (SE)
09 (LG)	Lagoa Grande	Mata de São João (BA)
10 (BI)	Barra do Itariri	Conde (BA)
11(CA)	Costa Azul	Jandaíra (BA)

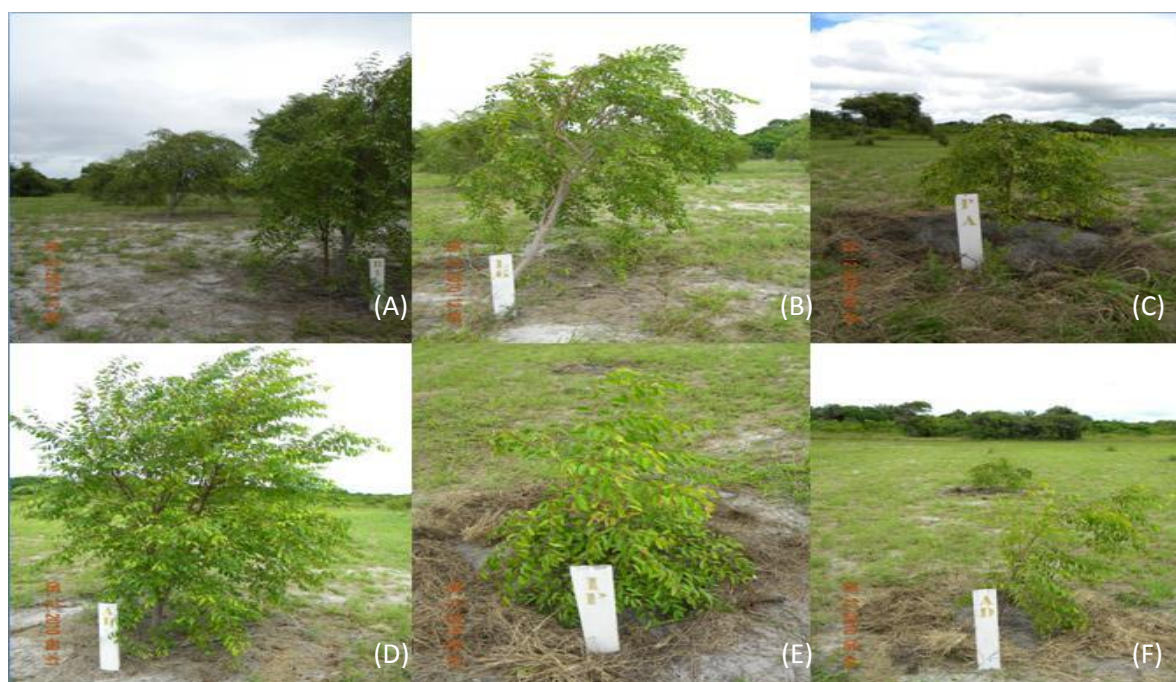


Figura 4 - Acessos pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira. A - Barra do Itariri (BA); B - Lagoa Grande (BA); C - Paratibe (PB); D - Água Boa (PA); E - Ipiranguinha (BA); F - Alhandra (PB). (Fotos: Tatiana Santos Costa, 2010)

Na Figura 5, estão representadas as posições geográficas dos acessos obtidos para formação do Banco de Germoplasma.



Figura 5 - Regiões de ocorrência de mangabeira (em verde) e pontos de coleta dos acessos inseridos no BGMangaba (em vermelho). (Alessandra Moraes – Laboratório de Geotecnologias Aplicadas, Embrapa Tabuleiros Costeiros).

3.2 Extração de DNA

Folhas jovens de cada acesso foram coletas e acondicionadas em envelopes de papel, devidamente identificadas e, transportadas para o Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Tabuleiros Costeiros, em caixa de isopor contendo gelo, a fim de evitar a oxidação das mesmas. As amostras foram mantidas em freezer a - 80°C até o momento da extração do DNA genômico.

Utilizou-se o método CTAB 2% (DOYLE & DOYLE, 1990), com algumas alterações. O material vegetal foi macerado em almofariz, em contato com nitrogênio líquido, no qual foram adicionados 10 mL de tampão CTAB 2% a 65°C, juntamente com 20 µL de β – mercaptoetanol. Posteriormente, o macerado foi transferido para tubos de fundo cônico e incubados por cerca de 60 minutos em banho-maria a 65°C.

Em seguida, retirou-se um volume de 1000 µL de cada amostra, que foi transferido para microtubo de 2 mL. De cada amostra foram feitas três repetições, nas quais adicionou-se aproximadamente 1000 µL de clorofórmio:álcool isoamílico na

proporção 24:1. Os microtubos foram agitados por, aproximadamente, 50 vezes e centrifugados por 30 minutos à uma velocidade de 7000 rpm, a 4°C.

O sobrenadante foi coletado e transferido para um novo microtubo, com 1000 µL de solução de acetato de sódio 3M:álcool etílico 95% na proporção de 1:6. O material permaneceu em repouso no freezer (- 20°C) por duas horas para a precipitação do DNA. Após esse período, os microtubos foram centrifugados por 10 minutos a uma velocidade de 14.000 rpm à 4°C. A solução de acetato de sódio:álcool etílico foi eliminada e adicionou-se 1500 µL de álcool etílico a 70%. As amostras permaneceram por 10 minutos a temperatura ambiente e, logo após, foram centrifugadas por 10 minutos à velocidade de 4.000 rpm. Após a retirada do álcool etílico, o precipitado formado foi seco ao ar e posteriormente suspenso em 100 µL de TE (Tris-HCl 10 mM, pH. 8,0; EDTA 1 mM) (100 µL).

3.3. Quantificação do DNA

O material genético foi quantificado em gel de agarose 1,0% com TBE 1x, na qual foram utilizadas alíquotas de 10 µL de cada amostra e 1 µL de solução de carregamento (azul de bromofenol 0,01%; glicerol 40%). A quantificação foi realizada por eletroforese horizontal durante 60 minutos a 100 V. Posteriormente, o gel foi corado em brometo de etídeo, onde permaneceu por cerca de 20 minutos, sendo fotodocumentadas em seguida (Figura 6). Todas as amostras foram armazenadas em freezer (- 20°C) até a realização das reações de RAPD.

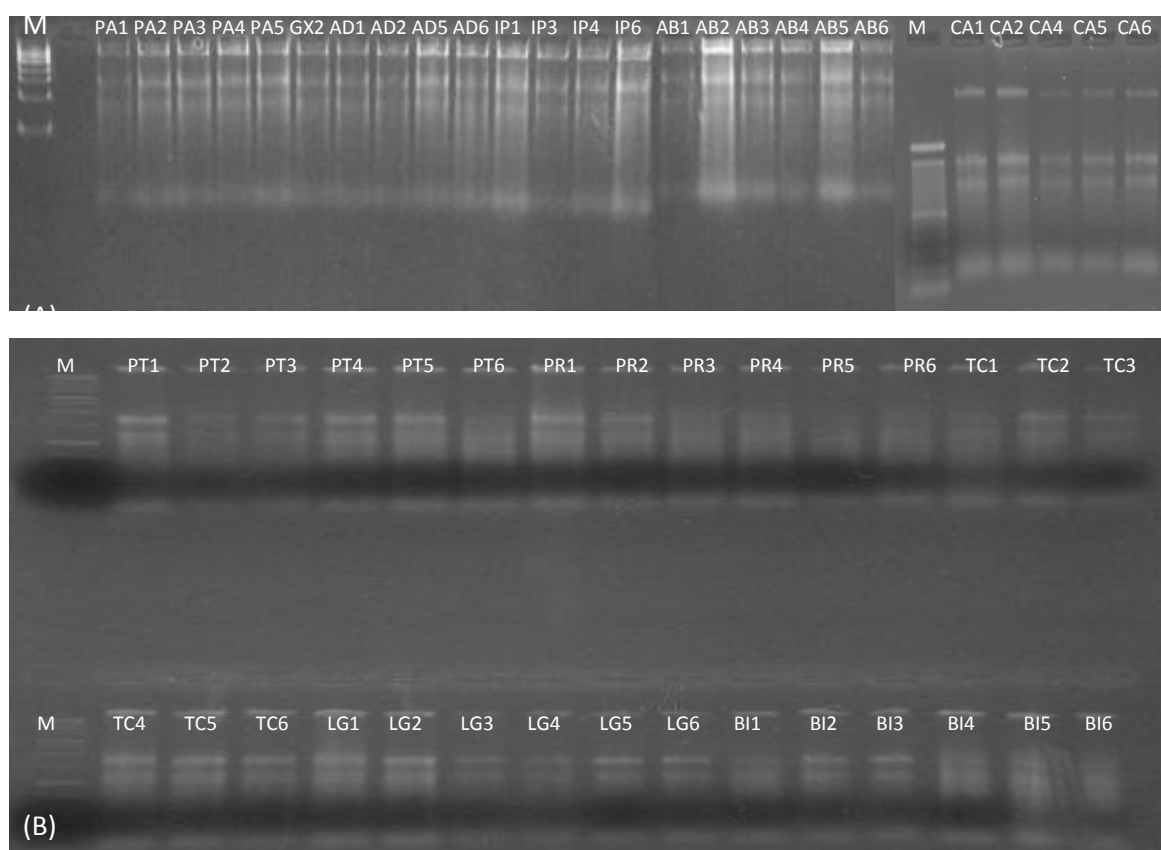


Figura 6 – Quantificação das amostras de DNA, (A) referente a primeira e a segunda extração; (B) referente a terceira extração. Indivíduos PA1 a PA5: acesso Paratibe; GX2: acesso Guaxinduba; AD1 a AD6: acesso Alhandra; IP1 a IP6: acesso Ipiranguinha; AB1 a AB6: acesso Água Boa; CA1 a CA6: acesso Costa Azul; PT1 a PT6: acesso Pontal; PR1 a PR6: acesso Preguiça; TC1 a TC6: acesso Terra Caída; LG1 a LG6: acesso Lagoa Grande; BI1 a BI6: acesso Barra do Itariri; M: marcador de peso molecular de 1Kb.

3.4. Teste de *primers*

Para padronização da metodologia, foram testados 59 *primers* de 10 pares de base, sendo 39 da marca Operon (Operon Technologies, USA) e 20 da marca IDT (Integrated DNA Technologies, Alemanha) (Tabela 2). Foram utilizados 2,5 µL de cada *primer*, juntamente com um *mix* composto de: 14,8 µL de água MilQ esterilizada; 5µL de tampão buffer 5X contendo MgCl (Promega); 0,5 µL de dNTP (10 mM); 0,2 µL de Taq polimerase (5 unidades/l) e 2,0 µL de um mix de DNA, contendo 02 µL de cada amostra de DNA. Em seguida, o material foi amplificado e visualizado em gel de agarose 1%.

Tabela 2 - Relação dos iniciadores de síntese (*primers*) testados para estudo da diversidade genética em germoplasma de mangabeira utilizando marcadores RAPD. Aracaju, SE. 2010.

PRIMERS	SEQUÊNCIA 5' – 3'	PRIMERS	SEQUÊNCIA 5' – 3'
A 01	CAG GCC CTT C	X 01	CTG GGC ACG A
A 02	TGC CGA GCT G	X 03	TGG CGC AGT G
A 03	AGT CAG CCA C	W 01	CTC AGT GTC C
A 04	AAT CGG GCT G	W 02	ACC CCG CCA A
A 05	AGG GGT CTT G	W 03	GTC CGG AGT G
A 06	GGT CCC TGA C	W 04	CAG AAG CGG A
A 07	GAA ACG GGT G	W 08	GAC TGC CTC T
A 08	GTG ACG TAG G	W 13	CAC AGC GAC A
A 09	GGG TAA CGC C	W 19	CAA AGC GCT C
A 10	GTG ATC GCA G	IDT 01	CAG GCC CTT C
A 11	CAA TCG CCG T	IDT 02	TGC CGA GCT G
A 12	TCG GCG ATA G	IDT 03	GTT TCG CTC C
A 13	CAG CAC CCA C	IDT 04	TGA TCC CTG G
A 14	TCT GTG CTG G	IDT 05	TTC GAG CCA G
A 15	TTC CGA ACC C	IDT 06	GTG AGG CGT C
A 16	AGC CAG CGA A	IDT 07	ACC GCG AAG G
A 17	GAC CGC TTG T	IDT 08	GGA CCC AAC C
A 18	AGG TGA CCG T	IDT 09	CCC AAG GTC C
A 19	CAA ACG TCG G	IDT 10	GGT GCG GGA A
A 20	GTT GCG ATC C	IDT 11	ACG GAT CCT G
B 01	GTT TCG CTC C	IDT 12	GAG GAT CCC T
B 02	TGA TCC CTG G	IDT 13	CTA CGG AGG A
B 03	CAT CCC CCT G	IDT 14	GGC ACT GAG G
B 09	TGG GGG ACT C	IDT 15	GGT CGG AGA A
B 11	GTA GAC CCG T	IDT 16	TCG GAC GTG A
B 18	CCA CAG CAG T	IDT 17	ACC TGG ACA C
K 20	GTG TCG CGA G	IDT 18	GGA GGA GAG G
N 20	GGT GCT CCG T	IDT 19	CCC GGC ATA A
S 01	CTA CTG GCG T	IDT 20	AAA GTT GGG A
S 18	CTG GCG AAC T		

3.5. Amplificação do DNA

Cada reação de RAPD constou com cerca de 50ng de DNA, tampão de PCR com MgCl adicionado (Promega) 1X, dNTP 10 mM, 1,0 U de Taq DNA polimerase (Promega) e cerca de 3 ng de *primer*. Os DNAs foram amplificados utilizando termociclador Biocicler, submetidos a um ciclo inicial de desnaturação de 96°C por 05 minutos; seguido de 35 ciclos de 45 segundos a 94°C, 45 segundos a 36°C, 45 segundos a 72°C e um ciclo de

extensão final de 10 minutos a 72°C. Foram avaliados 59 *primers* de 10 pares de base, sendo que destes 13 foram selecionados.

3.6. Eletroforese e Visualização dos Fragmentos

Em cada tubo contendo 25 µL de DNA amplificado, foram adicionados 3 µL de tampão de amostra (azul de bromofenol 0,01%; glicerol 40%). Desta mistura, 10 µL foram depositados nas canaletas do gel de agarose 1% (dissolvida em TBE 1X – TRIS 89 mM, ácido bórico 89 mM, EDTA 2,5 mM, pH 8,3) e submetidos à eletroforese horizontal, em tensão de 100 V por aproximadamente uma hora.

Após esse período de corrida eletroforética, os géis foram mergulhados numa solução contendo brometo de etídeo (0,02 µL /mL de água) por aproximadamente 30 minutos para possível visualização sob luz ultravioleta. Para a mensuração do padrão de bandejamento, foi utilizado o marcador de peso molecular (Promega) de 1 Kb.

Após a eletroforese, a visualização dos resultados foi realizada em equipamento de fotodocumentação Gel doc L-pix (Loccus Biotecnologia, Brasil) e gravada para as posteriores análises.

3.7. Número ótimo de bandas

Para a análise do numero ótimo de bandas, calculou-se as estimativas de correlação de valores da matriz de similaridade, a soma dos quadrados dos desvios em relação às reamostragens e o valor de estresse (E), que indica o ajuste entre a matriz original e a matriz simulada. Todas as análises foram feitas com o auxílio do Software Genes (CRUZ, 2006).

3.8. Análise dos Resultados

A partir da visualização dos fragmentos em gel de eletroforese, construiu-se a matriz de dados binários, observando a presença (1) ou ausência (0) de bandas. Essa matriz foi usada para a obtenção das estimativas de similaridades genéticas (S_{gij}), com auxílio do programa FreeTree (PAVLICEK et al., 1999), empregando-se o coeficiente de Jaccard por meio da expressão: $S_{gij} = a/a+b+c$ que formou variáveis que foram obtidas conforme o seguinte esquema:

	Genótipo i	
	1	0
Genótipo j	1	$a (1, 1)$
	0	$b (1, 0)$
		$c (0, 1)$
		$d (0, 0)$

Onde:

a = presença de bandas em ambos os genótipos;

b = presença de banda no primeiro genótipo e ausência no segundo;

c = presença no segundo e ausência no primeiro; e

d = a ausência em ambos os genótipos.

Os erros associados à similaridade e dissimilaridade foram estimados segundo Skroch et al. (1992) pela seguinte expressão:

$$E = \sqrt{\frac{S_{gij} \times 1 - S_{gij}}{(n-1)}}$$

Em que:

S_{gij} = (Di) Similaridade genética;

n = número total de bandas polimórficas utilizadas para o estudo.

O Coeficiente de Similaridade de Nei (1978) foi utilizado para calcular as diferenças genéticas entre populações (acessos), segundo a fórmula:

$$D = - \ln [G_{xy} / \sqrt{G_x G_y}]$$

Onde:

G_x e G_y são as médias de $(2n_{xj_x} - 1/2n_x - 1)$ e $(2n_{yj_y} - 1/2n_y - 1)$, para todos os loci, respectivamente;

$G_{xy} = J_{xy}$; representando J_{XY} , J_{Xy} , J_{yX} a média para todos os loci de $\sum x_i y_i, \sum x_i^2, \sum y_i^2$, respectivamente.

Os indivíduos geneticamente diferentes foram identificados no dendrograma a partir da estimativa do valor mínimo de (di)similaridade, acima do qual os indivíduos são semelhantes ou divergentes. O valor máximo de (di)similaridade significativo foi estimado pela (di)similaridade genética média [(D)Sgm] em que tem por base o Teste de t, ao nível de 0,001% de probabilidade:

$$(D)Sgm = 1 - \left((t)(\overline{E}) \right)$$

Onde:

t = o valor tabelado de t com n-2 graus de liberdade;

E = erro médio das comparações consideradas no dendrograma.

Para o agrupamento dos genótipos com base na similaridade genética, foi empregado o método UPGMA (Método da Média Aritmética Não Ponderada). Para reforçar o agrupamento, entre genótipos, foi efetuado o método de reamostragem Bootstrap com o mesmo tamanho da amostra original, sendo que para cada nível de reamostragem, foram obtidas 10.000 amostras Bootstrap. Essa análise foi realizada utilizando o programa FreeTree (PAVLICEK et al., 1999). No estudo de diversidade entre genótipos, o dendrograma foi obtido pelo programa TreeView (PAGE, 1996), e, entre as diferentes origens dos acessos, pelo XLSTAT (ADDINSOLFT, 2010).

O agrupamento das amostras considerando o método de análise de coordenadas principais (ACoP) foi realizado com auxílio do software XLSTAT (ADDINSOLFT, 2010) utilizando o coeficiente de (di)similaridade de Jaccard, obtida pelo programa FreeTree (PAVLICEK et al., 1999).

Com a matriz binária também calculou-se a porcentagem de polimorfismo obtida com cada *primer* utilizado por meio da fórmula:

$$P = \frac{nbp}{nbt} \times 100$$

Onde:

P = porcentagem de polimorfismo (ou taxa de polimorfismo);

nbp = número de bandas polimórficas;

nbt = número de bandas total.

O número total de alelos (N_a), número efetivo de alelos (N_e) e heterozigosidade esperada (H_e) foram obtidas com base na metodologia descrita por LYNCH & MILLIGAN (1994) e MAGUIRE et al. (2002). O índice de diversidade genética de Shannon (I) foi obtido de acordo com BROWN & WEIR (1983). A Análise de Variância Molecular (AMOVA) e o valor de diferenciação genética (ϕ_{st}) com 999 permutações ao acaso foram calculados pelo programa Genalex v. 6.3 (PEAKALL & SMOUSE, 2006).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análises de RAPD

Dentre os 59 primers testados, foram selecionados 13 por apresentarem eficiência na amplificação das amostras (Tabela 3).

Tabela 3 - Relação dos primers selecionados, com suas respectivas sequências, para estudo da diversidade genética em germoplasma de mangabeira utilizando marcadores RAPD. Aracaju, SE. 2010.

Primer	Sequência
A2	TGC CGA GCT G
A4	AAT CGG GCT G
A5	AGG GGT CTT G
A11	CAA TCG CCG T
B18	CCA CAG CAG T
IDT 06	GTG AGG CGT C
IDT 08	GGA CCC AAC C
IDT 09	CCC AAG GTC C
IDT 10	GGT GCG GGA A
ITD 12	GAG GAT CCC T
IDT 14	GGC ACT GAG G
S 18	CTG GCG AAC T
W 04	CAG AAG CGG A

Na Figura 7 é possível visualizar o padrão de fragmentos de DNAs das amostras de mangabeira e o sucesso da técnica RAPD para estudo da diversidade na espécie.

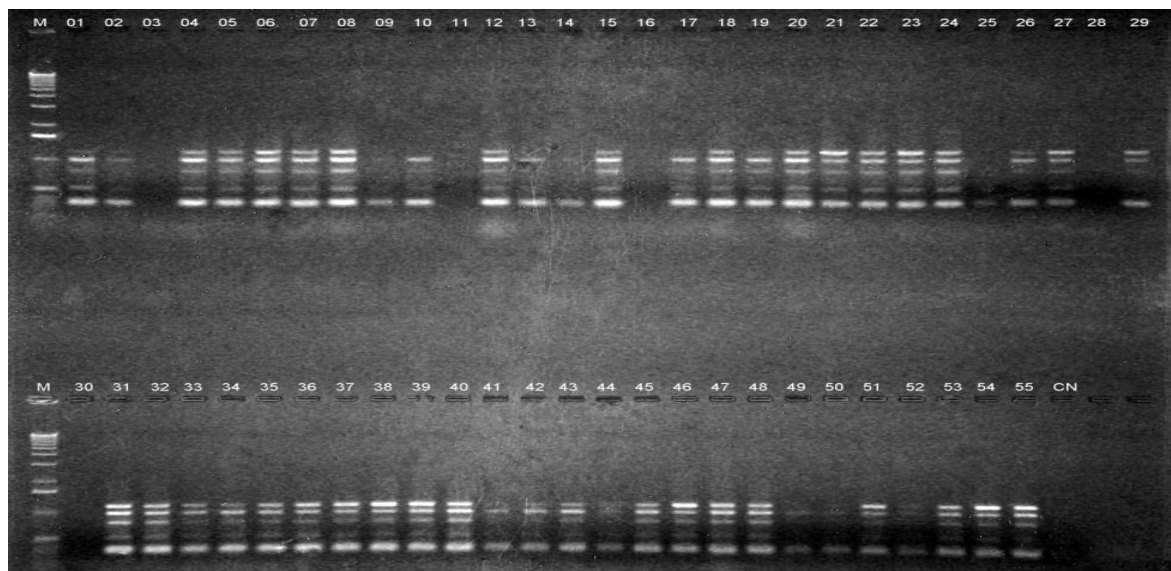


Figura 7 - Padrões de bandeamento de fragmentos de DNA amplificados por RAPD de acessos do Banco Ativo de Germoplasma de mangabeira, utilizando-se o primer IDT 09. 1-5: acesso Paratibe; 6: acesso Guaxinduba; 7-10: acesso Alhandra; 11-14: acesso Ipiranguinha; 15-20: acesso Água Boa; 21-25: acesso Costa Azul; 26-31: acesso Pontal; 32-37: acesso Preguiça; 38-43: acesso Terra Caída; 44-49: acesso Lagoa Grande; 50-55: acesso Barra do Itariri. (M) Marcador com padrão de peso molecular 1 Kb; (CN) controle negativo.

Os 13 *primers* selecionados produziram um total de 82 bandas, sendo 78 polimórficas (95%). O número de fragmentos variou de um (A5 - AGG GGT CTT G) a 24 (IDT 14 - GGC ACT GAG G). O *primer* A11(2000 – 400 pb) apresentou maior amplitude de pares de bases entre os fragmentos, ao contrário do *primer* IDT 10 (750-250pb) (Tabela 4).

Tabela 4 - Número de fragmentos gerados pelas reações de RAPD em estudo de diversidade genética em germoplasma de mangabeira. Aracaju, SE. 2010.

Primer	Nº de bandas totais (NBT)	Nº de Bandas Polimórficas (NBP)	Porcentagem de polimorfismo (%)	Amplitude de pares de Bases (pb)
A2	05	04	80	1300 - 250
A4	05	05	100	1000 - 250
A5	01	01	100	600
A11	04	04	100	2000 - 400
B18	06	06	100	1600 - 300
IDT 06	04	04	100	1000 - 250
IDT 08	04	03	75	1000 - 250
IDT 09	05	04	80	1600 - 500
IDT 10	06	05	83	750 - 250
ITD 12	06	06	100	1500 - 250
IDT 14	24	24	100	-
S 18	06	06	100	2000 - 750
W 04	06	06	100	1500 - 500
Total	82	78	95	

O *primer* A5 só apresentou uma linha de banda, enquadrada aos 600bp e para o IDT 14 não foi possível verificar, pois as bandas migraram após a última linha de banda do marcador (250 pb).

As bandas que apresentaram a mesma posição no gel, para todas as amostras, foram consideradas monomórficas, ou seja, migraram a mesma distância, o que representa ser a mesma região de um *locus*. Essas não foram utilizadas na análise de diversidade. Os primers utilizados geraram alto nível de polimorfismo (95%).

No estudo da divergência genética de acessos de mentrasto (*Ageratum conyzoides*), provenientes do estado de Minas Gerais, Castro et al. (2004) obtiveram, por meio de marcadores RAPD, 26 bandas polimórficas com a utilização de 14 *primers*. Silva et al. (2006), no estudo da caracterização morfológica e molecular de acessos de melancia do BAG da Embrapa Semi-Árido, obtiveram 64 bandas, sendo 31 polimórficas com o uso de seis primers. Chiorato et al. (2007), avaliando a diversidade genética do banco de germoplasma de feijoeiro do Instituto de Agronomia de Campinas (IAC), obtiveram 16% de polimorfismo, de um total de 201 bandas, com o uso de 19 primers.

4.2. Número ótimo de bandas

A partir das estimativas de correlação observou-se uma relação diretamente proporcional entre o número de fragmentos analisados e a magnitude de correlação dos valores da matriz de similaridade original, obtida a partir de reamostragens com diferentes números de bandas. Houve consistência dos dados quando a correlação (*r*) atingiu 0,9931 e o valor de estresse de 0,0482 (Figura 8), com 75 bandas. Segundo Kruskal (1964) o número de bandas é considerado ideal quando o estresse assumir valor inferior a 0,05.

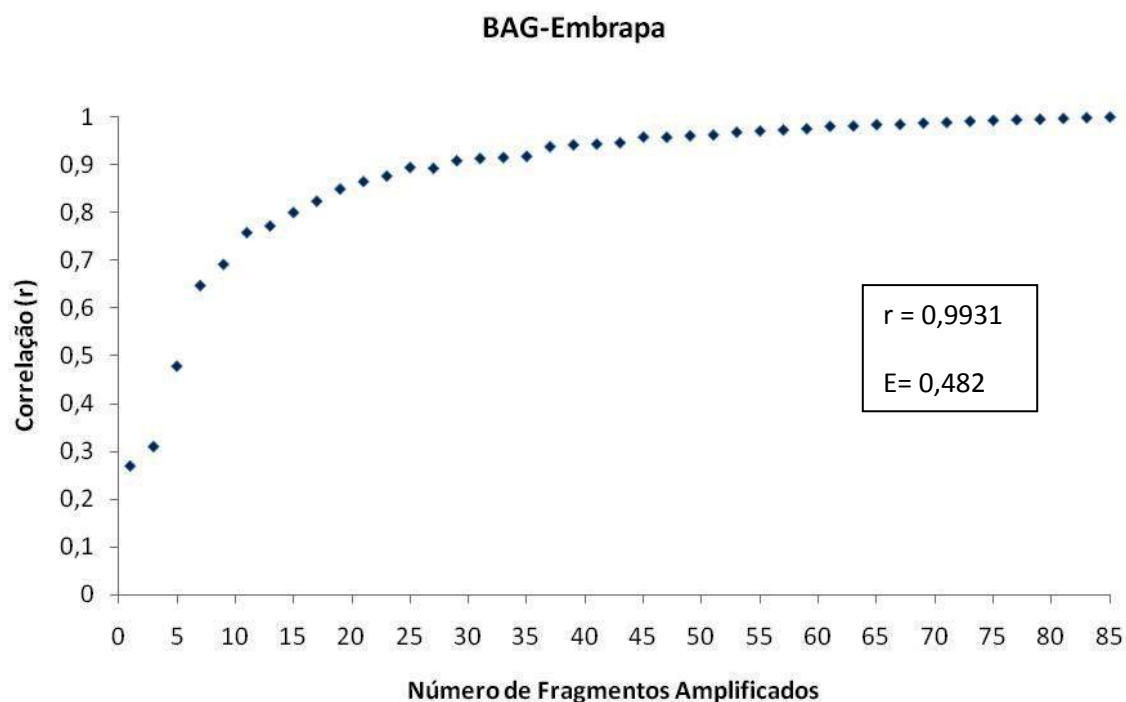


Figura 8 - Coeficiente de correlação (r) e o valor de estresse (E) com o número de fragmentos obtidos para 55 indivíduos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros.

4.3. Estrutura Genética

A partir da AMOVA, foi possível observar o padrão de distribuição da variabilidade genética que variou entre e dentro dos acessos (Tabela 5). A variação molecular foi maior dentro dos acessos (66%), ou seja, dentro de seu local de origem, do que entre eles (34%). O acesso 'Guaxinduba' foi excluído dessa análise, por apresentar apenas um indivíduo.

Tabela 8 - Análise de Variância Molecular (AMOVA) de 54 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de mangabeira, com os dados fornecidos pela técnica RAPD. Aracaju, SE. 2010

Fontes de Variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrados Médios	Componentes de Variância	Porcentagem de variação
Entre acessos	9	335,37	37,26	5,17	34%
Dentro dos acessos	43	426,70	9,92	9,92	66%
Total	52	762,07	47,48	15,10	100%

O Número Total de Alelos (N_a) variou de 0,55 a 1,37, enquanto Número de Alelos Efetivos (N_e) variou de 1,00 a 1,47, já para o Índice de Shannon (I) a variação foi de 0 a 0,38 ($X \approx 0,25$), quanto aos valores de Heterozigosidade Esperada (H_e), estes entre 0 e 0,26 ($X \approx 0,17$), (Tabela 6).

Tabela 6 - Número de alelos (Na); Número efetivo de alelos (Ne); Índice de Shannon (I) e Heterozigosidade esperada (He) em estudo da diversidade genética do Banco Ativo de Germoplasma de mangabeira, utilizando marcadores RAPD. Aracaju, SE. 2010.

Acesso/Local	N	Na	Ne	I	He
Paratibe (PB)	4	1,08	1,29	0,24	0,16
Guaxinduba (PB)	1	0,55	1,00	0,00	0,00
Alhandra (PB)	4	1,13	1,33	0,27	0,19
Ipiranguinha (BA)	4	1,05	1,27	0,25	0,16
Água Boa (PA)	6	1,27	1,33	0,29	0,19
Pontal (SE)	6	1,24	1,39	0,31	0,21
Preguiça (SE)	6	1,38	1,46	0,38	0,26
Terra Caída (SE)	6	1,25	1,31	0,27	0,18
Lagoa Grande (BA)	6	1,33	1,33	0,28	0,19
Barra do Itariri (BA)	6	1,36	1,35	0,29	0,20
Costa Azul (BA)	5	0,99	1,19	0,15	0,11
Total	5	1,15	1,29	0,25	0,17

Os valores encontrados de número de alelos (Na) para a mangaba foram inferiores quando comparados aos trabalhos de Oliveira et al. (2008), que estudando a variabilidade genética de Fava D'Anta (*Dimorphandra mollis*), encontraram Na de 1,728 e de Ne de 1,522. Na literatura há poucos trabalhos relacionados a este tipo de estudo, o que impossibilita a comparação dos valores encontrados com outras áreas ou bancos de germoplasma no país para a mangaba.

Para He, os valores foram inferiores aos valores encontrados por Oliveira et al. (2008), que obtiveram He = 0,30 em estudos de diversidade genética entre populações de Fava D'Anta. Silva et al. (2009), analisando populações nordestinas de cajazeira (*Spondias mombin*), encontraram valores de He ainda maiores (0,57); e Pereira (2007), em acessos de araticum (*Annona crassiflora* Mart.), por marcadores ISSR, obteve 0,86, indicando alta diversidade genética entre populações.

O baixo valor de He (0,17) sugere baixa diversidade existente no BAG mangaba. Em condições naturais espera-se que o valor de He seja sempre diferente de zero, pois os indivíduos têm probabilidade de incorporar novos alelos por meio de cruzamentos, ou ainda, em populações pequenas ou fragmentadas, além de ocorrer perdas por meio da deriva genética (BARREIRA et al., 2006).

No presente trabalho, o Índice de Shannon (0,25) foi considerado baixo, por ser menor que 0,5. O índice de diversidade de Shannon (I) é utilizado para descrever a riqueza de espécies, e varia de 0 a 1, sendo que quanto mais próximos de um, mais rica é a espécie. O acesso que obteve maior valor foi 'Preguiça', com 0,38. Os valores observados entre os acessos podem estar relacionados ao fato de que os mesmos são provenientes de áreas fragmentadas, e com forte pressão de seleção antrópica, o que contribui para a deriva genética, ou ainda pela baixa representatividade dos locais de origem, ou seja, o número de indivíduos por acesso.

O índice de Shannon é empregado para quantificar a diversidade genotípica em populações, o valor de 'I' indica frequência de classes desbalanceadas para determinada características e falta de diversidade genética (PERRY & MCINTOSH, 1991). Esse índice é relativamente insensível aos efeitos da distorção causada pela incapacidade de detectar locos heterozigotos (DAWSON et al., 1995), sendo uma boa ferramenta para análise de populações utilizando marcadores dominantes. A comparação com os índices de Shannon é limitada pelo fato de que outros estudos utilizaram diferentes abordagens para o seu cálculo (GILLIES et al., 1997; WOLF et al., 1997). Assim, os resultados obtidos podem contribuir para outros grupos de pesquisa que utilizem os mesmos padrões do presente estudo.

4.4. Diversidade Genética

4.4.1 Entre acessos

A dissimilaridade baseada na distância genética de Nei, calculada entre pares de acessos (Tabela 7), variou entre $0,11 \pm 0$ (AD e PA) e $0,51 \pm 0,5$ (CA e IP; CA e PR). Os valores obtidos evidenciam o grau de dissimilaridade genética entre os acessos do BAG mangaba (0,44). O menor valor foi observado entre os acessos oriundos do estado da Paraíba, ratificando a proximidade tanto geográfica, como genética. Ao contrário, maiores valores observados entre os pares de acessos coletados na Bahia (CA e IP) - distantes geograficamente em aproximadamente 66,3 Km - e os acessos coletados da Bahia e de Sergipe (CA e PR) - distantes 37,0 Km - Este método teve por base o índice de dissimilaridade genética com $0,26 (\pm 0,04)$ de dissimilaridade média.

Tabela 7 - Matriz de dissimilaridade genética do coeficiente de Nei (1978) (abaixo da diagonal) e erro estimado (acima da diagonal) obtidos utilizando 13 iniciadores de síntese (primers) pela técnica RAPD entre 55 indivíduos do Bando Ativo de Germoplasma de mangabeira. Aracaju, SE. 2010.

	PA	GX	AD	IP	AB	PT	PR	TC	LG	BI	CA
Paratibe (PA)	-	0,05	0,04	0,05	0,04	0,05	0,05	0,05	0,04	0,05	0,05
Guaxinduba (GX)	0,24	-	0,04	0,05	0,05	0,05	0,06	0,05	0,05	0,05	0,05
Alhandra (AD)	0,11	0,19	-	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05	0,05	0,05
Ipiranguinha (IP)	0,21	0,40	0,12	-	0,04	0,05	0,03	0,05	0,05	0,05	0,06
Água Boa (AB)	0,18	0,27	0,16	0,19	-	0,04	0,04	0,05	0,05	0,05	0,06
Pontal (PT)	0,22	0,25	0,16	0,21	0,20	-	0,04	0,05	0,04	0,04	0,05
Preguiça (PR)	0,21	0,45	0,17	0,08	0,18	0,18	-	0,05	0,05	0,05	0,06
Terra caída (TC)	0,29	0,41	0,30	0,28	0,28	0,27	0,22	-	0,05	0,04	0,05
Lagoa Grande (LG)	0,19	0,31	0,21	0,30	0,33	0,18	0,25	0,22	-	0,04	0,05
Barra do Itariri (BI)	0,25	0,34	0,21	0,31	0,33	0,19	0,27	0,20	0,17	-	0,05
Costa Azul (CA)	0,39	0,40	0,39	0,51	0,48	0,33	0,51	0,28	0,26	0,21	-

Diferentemente dos dados obtidos neste trabalho, Chiorato et al. (2007), avaliando acessos de feijoeiro, da *Phaseolus vulgaris*, do BAG do Instituto agrônomo de Campinas (IAC) obtiveram divergência genética entre acessos variando de 0,13 a 0,82. Junqueira et al. (2007), ao avaliarem a diversidade genética de acessos de maracujá-suspiro, *Passiflora nitida* Kunth., da Embrapa Cerrados, obtiveram valores entre 0,03 a 0,61 entre 19 acessos. Alves (2002) obteve valores entre 0,02 e 0,99 entre acessos de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*).

Os valores de distância genética de Nei foram utilizados para a construção de um dendrograma com o método UPGMA. Houve diferenciação dos acessos a partir de 0,15 de dissimilaridade, ou seja, 0,85 de similaridade, sugerindo que há baixa diversidade genética entre os acessos do BGMangaba, como já proposto na AMOVA (Figura 9).

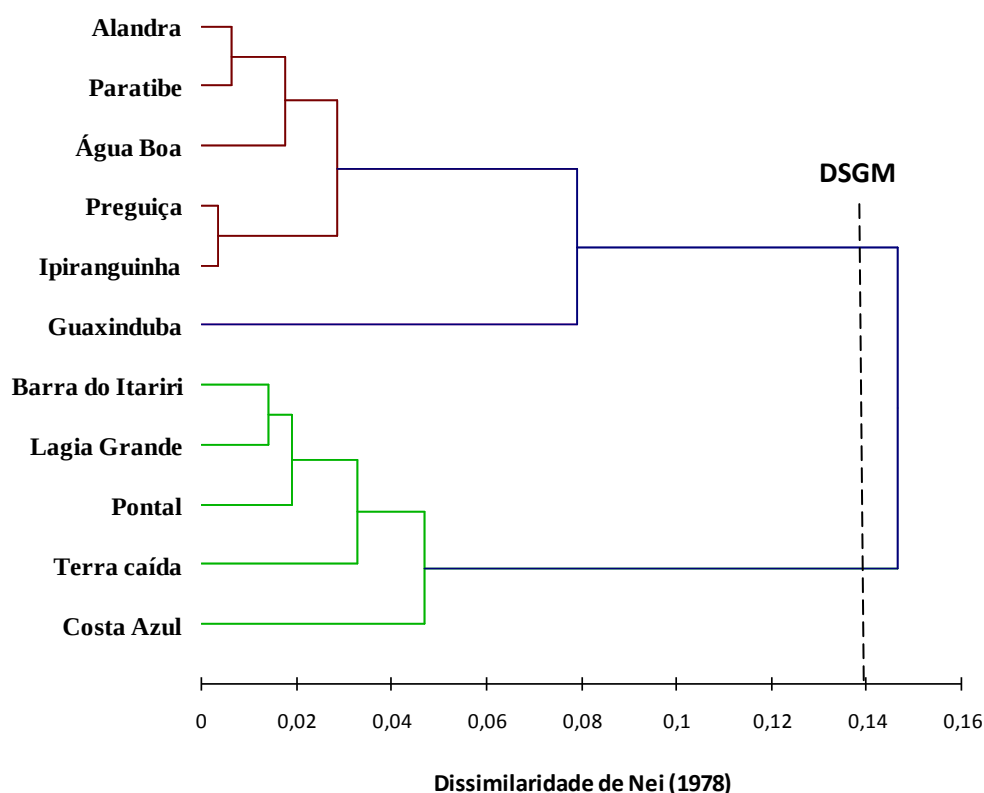


Figura 9 - Representação filogenética do agrupamento UPGMA estimado a partir da similaridade genética do coeficiente de Nei (1978) para os 11 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de mangabeira.

A partir do DSGM (0,14), todos os acessos foram considerados similares entre si, sendo que houve a formação de dois grupos, um primeiro grupo composto pelos acessos Alhandra, Paratibe, Água Boa, Preguiça, Ipiranguinha e Guaxinduba; e o segundo pelos acessos Barra do Itariri, Lagoa Grande, Pontal, Terra Caída e Costa Azul.

Para a ACoP, os dois primeiros eixos consolidaram 57,52% da variação entre os componentes, sendo que ao total houve formação de três grupos entre os acessos. O primeiro grupo formado por Alhandra, Paratibe, Água Boa e Pontal; o segundo por, Ipiranguinha e Preguiça; e por fim, o composto por Lagoa Grande, Barra do Itariri e Terra. Os indivíduos Costa Azul e Guaxinduba não se agruparam e se posicionaram em quadrantes diferentes, evidenciando um destaque entre os acessos (Figura 10).

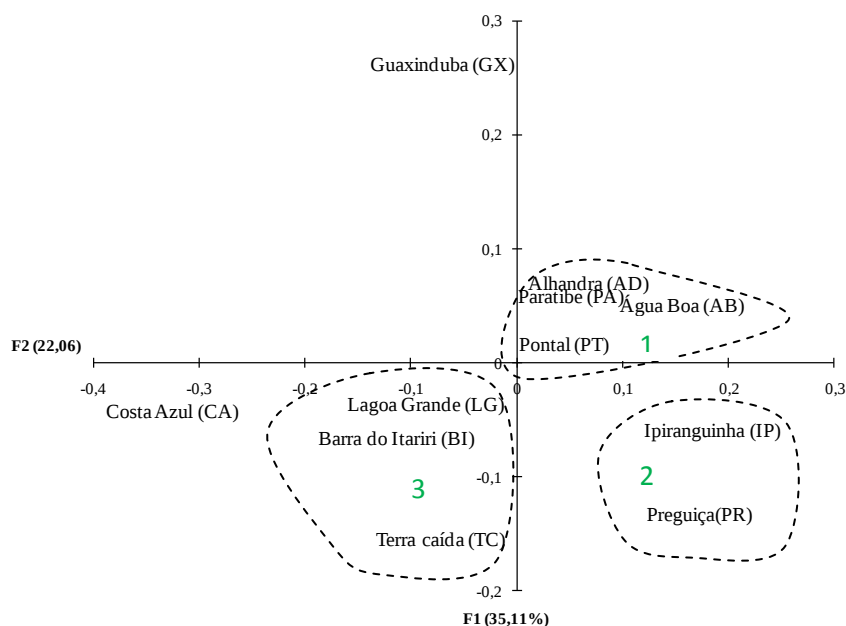


Figura 10 - Análise de Coordenadas Principais (ACoP) entre acessos do Banco Ativo de Germoplasma de mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros.

Cruzando as informações entre agrupamento UPGMA e ACoP, percebe-se que o grupo de acessos formados por Alhandra (PB), Paratibe (PB), Água Boa (PA) e Pontal (PT), parecem estar relacionadas geneticamente. O acesso Guaxinduba (PB), apesar de apenas ter um representante no BAG, apresentou a maior diferença genética entre os acessos, pois sempre se posicionou de maneira singular nos agrupamentos. Os acessos Ipiranguinha (BA) e Preguiça (SE) nos dois agrupamentos estão ligados geneticamente. Os acessos delimitados geograficamente entre Bahia e Sergipe: (Lagoa Grande (BA), Barra do Itariri (BA), Terra Caída (SE) e Costa Azul (BA), geneticamente não apresentam essa barreira geográfica

O emprego de mais de um método de agrupamento, em razão das diferenças na hierarquização, otimização e ordenação dos grupos, permite que a classificação dos acessos se complemente em função dos critérios que cada técnica utiliza, e impede que inferências errôneas sejam adotadas na alocação de materiais, dentro de um determinado subgrupo de genótipos (ARRIEL et al., 2006).

4.4.2 Entre Indivíduos

Além da análise da diversidade genética entre acessos, a diversidade genética entre os indivíduos pertencentes ao BAG foi estimada (Tabela 8), sendo a similaridade média de 0,48 (0,02-0,91) e erro médio de 0,05. A diversidade genética variou de $0,07 \pm 0,05$ (PR4 e IP6), referentes aos coletados em Sergipe e Bahia, respectivamente, e de $0,88 \pm 0,05$ (PT2 e PT3), ambos pertencentes ao mesmo acesso, oriundo do estado de Sergipe.

Tabela 8 - Matriz da similaridade genética do coeficiente de Jaccard (1908) (abaixo da diagonal) e erro estimado (acima da diagonal) obtidos utilizando 13 *primers* pela técnica RAPD entre 55 indivíduos dos 11 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros. Aracaju, SE. 2010.

	PA 1	PA 2	PA 4	PA 5	GX 2	AD 1	AD 2	AD 5	AD 6	IP 1	IP 3	IP 4	IP 6	AB 1	AB 2	AB 3	AB 4	AB 5	AB 6	PT 1	PT 2	PT 3	PT 4	PT 5	PT 6
PA 1	-	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.04	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	
PA 2	0.57	-	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	0.05	0.06	0.05	0.06	0.05	0.06	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.06	
PA 4	0.63	0.57	-	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	
PA 5	0.60	0.45	0.76	-	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.05	0.06	
GX 2	0.55	0.51	0.76	0.64	-	0.05	0.05	0.06	0.05	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	
AD 1	0.48	0.50	0.69	0.70	0.70	-	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	
AD 2	0.53	0.52	0.65	0.59	0.76	0.62	-	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	
AD 5	0.52	0.51	0.46	0.44	0.56	0.46	0.51	-	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	
AD 6	0.54	0.46	0.51	0.46	0.58	0.48	0.60	0.68	-	0.05	0.06	0.06	0.05	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	
IP 1	0.38	0.35	0.47	0.48	0.48	0.53	0.52	0.38	0.40	-	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	
IP 3	0.39	0.33	0.48	0.52	0.55	0.48	0.53	0.33	0.44	0.54	-	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.06	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	
IP 4	0.41	0.46	0.42	0.37	0.37	0.33	0.43	0.45	0.51	0.39	0.44	-	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	
IP 6	0.16	0.28	0.23	0.22	0.24	0.24	0.27	0.26	0.25	0.23	0.31	0.33	-	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.04	0.05	0.05	0.04	0.05	0.05	
AB 1	0.38	0.51	0.55	0.44	0.53	0.49	0.57	0.40	0.46	0.35	0.36	0.45	0.26	-	0.05	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	
AB 2	0.32	0.37	0.50	0.39	0.45	0.38	0.49	0.37	0.40	0.41	0.36	0.42	0.23	0.64	-	0.05	0.05	0.06	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.06	
AB 3	0.52	0.44	0.52	0.42	0.50	0.44	0.45	0.44	0.46	0.31	0.37	0.42	0.22	0.50	0.41	-	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	
AB 4	0.45	0.40	0.56	0.46	0.62	0.47	0.52	0.42	0.44	0.38	0.50	0.40	0.21	0.54	0.43	0.70	-	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	
AB 5	0.44	0.45	0.59	0.51	0.60	0.53	0.52	0.42	0.44	0.32	0.38	0.37	0.23	0.65	0.52	0.57	0.65	-	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	
AB 6	0.45	0.40	0.58	0.51	0.64	0.50	0.52	0.43	0.42	0.36	0.44	0.36	0.18	0.54	0.40	0.56	0.76	0.70	-	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	
PT 1	0.47	0.49	0.62	0.54	0.62	0.59	0.61	0.45	0.44	0.35	0.38	0.35	0.24	0.54	0.46	0.48	0.58	0.72	0.66	-	0.05	0.05	0.06	0.05	
PT 2	0.45	0.46	0.64	0.51	0.65	0.58	0.63	0.45	0.50	0.38	0.42	0.41	0.22	0.51	0.43	0.48	0.52	0.61	0.60	0.73	-	0.04	0.05	0.06	
PT 3	0.47	0.42	0.63	0.58	0.66	0.57	0.62	0.47	0.52	0.38	0.49	0.38	0.20	0.45	0.42	0.47	0.53	0.56	0.61	0.65	0.88	-	0.05	0.06	
PT 4	0.45	0.38	0.58	0.51	0.61	0.55	0.57	0.40	0.45	0.36	0.56	0.38	0.21	0.38	0.35	0.39	0.52	0.49	0.59	0.63	0.69	0.73	-	0.06	
PT 5	0.38	0.34	0.36	0.40	0.45	0.47	0.40	0.44	0.43	0.42	0.36	0.32	0.21	0.24	0.28	0.31	0.40	0.43	0.43	0.52	0.49	0.51	0.49	-	
PT 6	0.43	0.44	0.56	0.47	0.63	0.54	0.58	0.52	0.48	0.36	0.42	0.42	0.26	0.55	0.47	0.52	0.58	0.59	0.58	0.68	0.78	0.75	0.64	0.47	
PR 1	0.47	0.40	0.62	0.59	0.62	0.59	0.61	0.42	0.44	0.43	0.53	0.50	0.27	0.51	0.46	0.51	0.61	0.58	0.66	0.58	0.67	0.68	0.60	0.46	
PR 2	0.15	0.10	0.06	0.11	0.08	0.07	0.09	0.11	0.11	0.08	0.12	0.10	0.13	0.05	0.06	0.07	0.07	0.07	0.06	0.12	0.09	0.08	0.10	0.16	
PR 3	0.44	0.42	0.47	0.51	0.51	0.47	0.49	0.39	0.44	0.37	0.53	0.46	0.31	0.42	0.30	0.45	0.58	0.49	0.61	0.49	0.49	0.51	0.52		
PR 4	0.05	0.03	0.04	0.09	0.06	0.05	0.07	0.06	0.05	0.06	0.13	0.03	0.07	0.03	0.03	0.02	0.07	0.08	0.08	0.10	0.07	0.08	0.11		
PR 5	0.51	0.35	0.51	0.57	0.44	0.48	0.47	0.41	0.48	0.34	0.45	0.42	0.20	0.49	0.38	0.44	0.45	0.53	0.53	0.50	0.50	0.52	0.48		
PR 6	0.48	0.38	0.56	0.54	0.49	0.51	0.47	0.38	0.45	0.36	0.45	0.39	0.20	0.49	0.35	0.41	0.45	0.53	0.55	0.53	0.53	0.52	0.50		
TC 1	0.41	0.29	0.44	0.44	0.47	0.46	0.40	0.36	0.38	0.30	0.35	0.29	0.19	0.44	0.31	0.42	0.50	0.45	0.55	0.50	0.48	0.49	0.43		
TC 2	0.41	0.26	0.47	0.47	0.43	0.46	0.43	0.29	0.33	0.32	0.35	0.34	0.18	0.42	0.36	0.42	0.43	0.45	0.46	0.46	0.54	0.53	0.41		
TC 3	0.43	0.28	0.48	0.49	0.47	0.48	0.38	0.33	0.38	0.34	0.42	0.33	0.15	0.43	0.33	0.41	0.47	0.47	0.53	0.42	0.45	0.49	0.45		
TC 4	0.40	0.24	0.45	0.44	0.46	0.43	0.39	0.27	0.34	0.30	0.51	0.35	0.17	0.40	0.31	0.36	0.44	0.42	0.45	0.42	0.42	0.47	0.53		
TC 5	0.48	0.32	0.48	0.49	0.47	0.48	0.40	0.33	0.42	0.38	0.51	0.41	0.19	0.43	0.32	0.44	0.50	0.44	0.45	0.40	0.42	0.47	0.43		
TC 6	0.45	0.35	0.55	0.51	0.51	0.53	0.52	0.35	0.44	0.41	0.42	0.38	0.17	0.54	0.43	0.54	0.55	0.55	0.54	0.49	0.60	0.61	0.47		
LG 1	0.45	0.40	0.60	0.57	0.55	0.67	0.50	0.43	0.40	0.44	0.42	0.35	0.21	0.40	0.29	0.44	0.45	0.44	0.50	0.53	0.62	0.60	0.53		
LG 2	0.49	0.48	0.63	0.58	0.58	0.67	0.54	0.47	0.46	0.43	0.41	0.37	0.22	0.50	0.39	0.50	0.48	0.51	0.51	0.56	0.62	0.60	0.51		
LG 3	0.47	0.39	0.47	0.48	0.46	0.53	0.44	0.45	0.36	0.35	0.38	0.34	0.20	0.31	0.23	0.40	0.36	0.38	0.42	0.44	0.52	0.51	0.49		
LG 4	0.56	0.39	0.51	0.59	0.57	0.56	0.53	0.49	0.43	0.40	0.43	0.30	0.18	0.39	0.34	0.44	0.48	0.50	0.55	0.55	0.48	0.54	0.48		
LG 5	0.48	0.42	0.53	0.59	0.59	0.67	0.50	0.42	0.43	0.42	0.46	0.31	0.17	0.44	0.30	0.40	0.48	0.50	0.60	0.58	0.57	0.61	0.57		
LG 6	0.45	0.43	0.47	0.53	0.53	0.65	0.47	0.38	0.37	0.43	0.39	0.33	0.17	0.45	0.30	0.36	0.44	0.49	0.49	0.52	0.49	0.48	0.49		
BI 1	0.46	0.38	0.48	0.52	0.54	0.51	0.50	0.52	0.51	0.30	0.45	0.39	0.21	0.52	0.36	0.42	0.45	0.47	0.48	0.53	0.53	0.57	0.55		
BI 2	0.40	0.38	0.48	0.52	0.44	0.51	0.42	0.40	0.40	0.31	0.37	0.35	0.21	0.46	0.32	0.34	0.33	0.42	0.38	0.50	0.49	0.49	0.43		
BI 3	0.44	0.33	0.44	0.54	0.52	0.51	0.48	0.42	0.41	0.32	0.41	0.31	0.20	0.42	0.31	0.40	0.41	0.45	0.55	0.52	0.55	0.56	0.50		
BI 4	0.52	0.42	0.54	0.50	0.58	0.49	0.59	0.45	0.46	0.31	0.36	0.35	0.20	0.47	0.37	0.43	0.39	0.46	0.48	0.56	0.59	0.52	0.46		
BI 5	0.41	0.31	0.41	0.47	0.54	0.48	0.50	0.44	0.38	0.37	0.43	0.31	0.19	0.32	0.31	0.39	0.43	0.42	0.48	0.50	0.55	0.57	0.50		
BI 6	0.40	0.35	0.43	0.49	0.47	0.51	0.50	0.40	0.35	0.38	0.34	0.33	0.19	0.35	0.27	0.25	0.31	0.37	0.40	0.50	0.47	0.44	0.45		
CA 1	0.51	0.37	0.48	0.47	0.56	0.51	0.48	0.47	0.39	0.35	0.41	0.33	0.17	0.39	0.30	0.42	0.45	0.43	0.52	0.55	0.57	0.59	0.55		
CA 2	0.41	0.34	0.46	0.42	0.52	0.48	0.43	0.49	0.36	0.37	0.36	0.32	0.18	0.41	0.34	0.38	0.45	0.43	0.52	0.48	0.52	0.54	0.48		
CA 4	0.48	0.39	0.55	0.53	0.58	0.57	0.47	0.44	0.41	0.40	0.45	0.35	0.18	0.44	0.32	0.42	0.49	0.49	0.58	0.54	0.56	0.60	0.58		
CA 5	0.45	0.39	0.52	0.51	0.58	0.55	0.47	0.43	0.43	0.39	0.45	0.34	0.19	0.43	0.30	0.37	0.45	0.47	0.56	0.54	0.56	0.58	0.56		
CA 6	0.43	0.36	0.52	0.51	0.51	0.58	0.42	0.38	0.35	0.37	0.42	0.32	0.20	0.41	0.29	0.39	0.42								

Tabela 8 - (Continuação) Matriz da similaridade genética do coeficiente de Jaccard (1908) (abaixo da diagonal) e erro estimado (acima da diagonal) obtidos utilizando 13 *primers* pela técnica RAPD entre 55 indivíduos dos 11 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros. Aracaju, SE. 2010.

	PR 1	PR 2	PR 3	PR 4	PR 5	PR 6	TC 1	TC 2	TC 3	TC 4	TC 5	TC 6	LG 1	LG 2	LG 3	LG 4	LG 5	LG 6	BI 1	BI 2	BI 3	BI 4	BI 5	BI 6	CA 1	CA 2	CA 4	CA 5	CA 6
PA 1	0.06	0.04	0.06	0.02	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	0.05	0.06	0.06	0.05
PA 2	0.05	0.03	0.05	0.02	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
PA 4	0.05	0.03	0.06	0.02	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
PA 5	0.05	0.03	0.06	0.03	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06
GX 2	0.05	0.03	0.06	0.03	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06
AD 1	0.05	0.03	0.06	0.02	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.05
AD 2	0.05	0.03	0.06	0.03	0.06	0.06	0.05	0.06	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.05
AD 5	0.05	0.03	0.05	0.03	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05
AD 6	0.06	0.03	0.06	0.03	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.06	0.05	0.06	0.06	0.05	0.06	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
IP 1	0.06	0.03	0.05	0.03	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
IP 3	0.06	0.04	0.06	0.04	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06
IP 4	0.06	0.03	0.06	0.02	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
IP 6	0.05	0.04	0.05	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	0.04	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
AB 1	0.06	0.02	0.05	0.02	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.05	0.06	0.06	0.05	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.05
AB 2	0.06	0.03	0.05	0.02	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
AB 3	0.06	0.03	0.06	0.02	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
AB 4	0.05	0.03	0.05	0.03	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05
AB 5	0.05	0.03	0.06	0.03	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06
AB 6	0.05	0.03	0.05	0.03	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.05	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06
PT 1	0.05	0.04	0.06	0.03	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
PT 2	0.05	0.03	0.06	0.03	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06
PT 3	0.05	0.03	0.06	0.03	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.05	0.05	0.06
PT 4	0.05	0.03	0.06	0.03	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.05	0.06
PT 5	0.06	0.04	0.06	0.04	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
PT 6	0.05	0.03	0.06	0.02	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06
PR 1	-	0.03	0.05	0.02	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
PR 2	0.07	-	0.04	0.05	0.03	0.03	0.03	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03	0.03	0.04	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.02	0.03	0.03	0.03
PR 3	0.65	0.14	-	0.04	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	0.06	0.05
PR 4	0.05	0.33	0.14	-	0.03	0.04	0.03	0.02	0.03	0.03	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03	0.02	0.03	0.02	0.03	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03	0.03
PR 5	0.62	0.09	0.56	0.09	-	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.06	0.05	0.06	0.05	0.05	0.06	0.05	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
PR 6	0.62	0.11	0.59	0.12	0.79	-	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06
TC 1	0.58	0.08	0.50	0.06	0.65	0.65	-	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
TC 2	0.66	0.07	0.51	0.04	0.57	0.57	0.73	-	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
TC 3	0.58	0.04	0.53	0.07	0.65	0.69	0.78	0.77	-	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05
TC 4	0.50	0.05	0.41	0.08	0.45	0.51	0.54	0.55	0.67	-	0.05	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05
TC 5	0.56	0.04	0.56	0.07	0.66	0.63	0.59	0.61	0.73	0.64	-	0.05	0.06	0.05	0.05	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.06
TC 6	0.70	0.02	0.46	0.02	0.61	0.58	0.61	0.72	0.71	0.56	0.65	-	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
LG 1	0.65	0.07	0.47	0.05	0.57	0.63	0.59	0.64	0.63	0.45	0.51	0.62	-	0.04	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05
LG 2	0.65	0.06	0.43	0.04	0.60	0.63	0.63	0.64	0.66	0.44	0.57	0.71	0.81	-	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05
LG 3	0.49	0.07	0.33	0.05	0.45	0.42	0.42	0.45	0.45	0.39	0.37	0.52	0.70	0.66	-	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05
LG 4	0.50	0.12	0.47	0.10	0.59	0.56	0.61	0.54	0.59	0.41	0.48	0.48	0.59	0.65	0.61	-	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.06	0.05	0.06	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05
LG 5	0.58	0.07	0.53	0.08	0.61	0.64	0.61	0.49	0.61	0.51	0.59	0.55	0.64	0.64	0.58	0.71	-	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
LG 6	0.49	0.11	0.46	0.09	0.53	0.58	0.53	0.46	0.58	0.47	0.56	0.52	0.56	0.59	0.52	0.63	0.78	-	0.05	0.06	0.05	0.06	0.05	0.05	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05
BI 1	0.50	0.10	0.45	0.09	0.62	0.59	0.61	0.49	0.62	0.57	0.56	0.53	0.54	0.65	0.53	0.64	0.63	0.58	-	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06					

similaridade genética média indica o valor acima do qual os indivíduos são considerados semelhantes. Assim sendo, o par PT2 e PT3 com 0,90 pode ser considerados próximos. A estabilidade dos agrupamentos dentro do dendrograma foi testada por procedimentos de reamostragem, sendo utilizadas 10.000 reamostragens bootstrap.

Na análise de agrupamento ACoP (Figura 12) os dois primeiros componentes principais apresentaram a soma de variação de 28,93%. Houve a formação de seis grupos: o primeiro, formado pelos indivíduos AD2 e AD6; o segundo, por AD5 e PR2; o terceiro grupo, formado pelos indivíduos AD1 e PT5; o quarto grupo formado pelos indivíduos PA2, AB2, IP3, AB1, PT6, PT3, LG3 e LG1; e, o quinto por IP4, PR3, AB3, AB5, AB4, PT1, PR1, PR5, BI6, TC2, BI3, CA6, CA5, CA4, BI2, LG6, TC4, TC6, BI5, TC3, LG4, LG2, CA1, GX2, PA5, PT4, LG2, PT2, PA4, AB6, PA1, IP1, e por fim um sexto formado por PA3 e PR4.

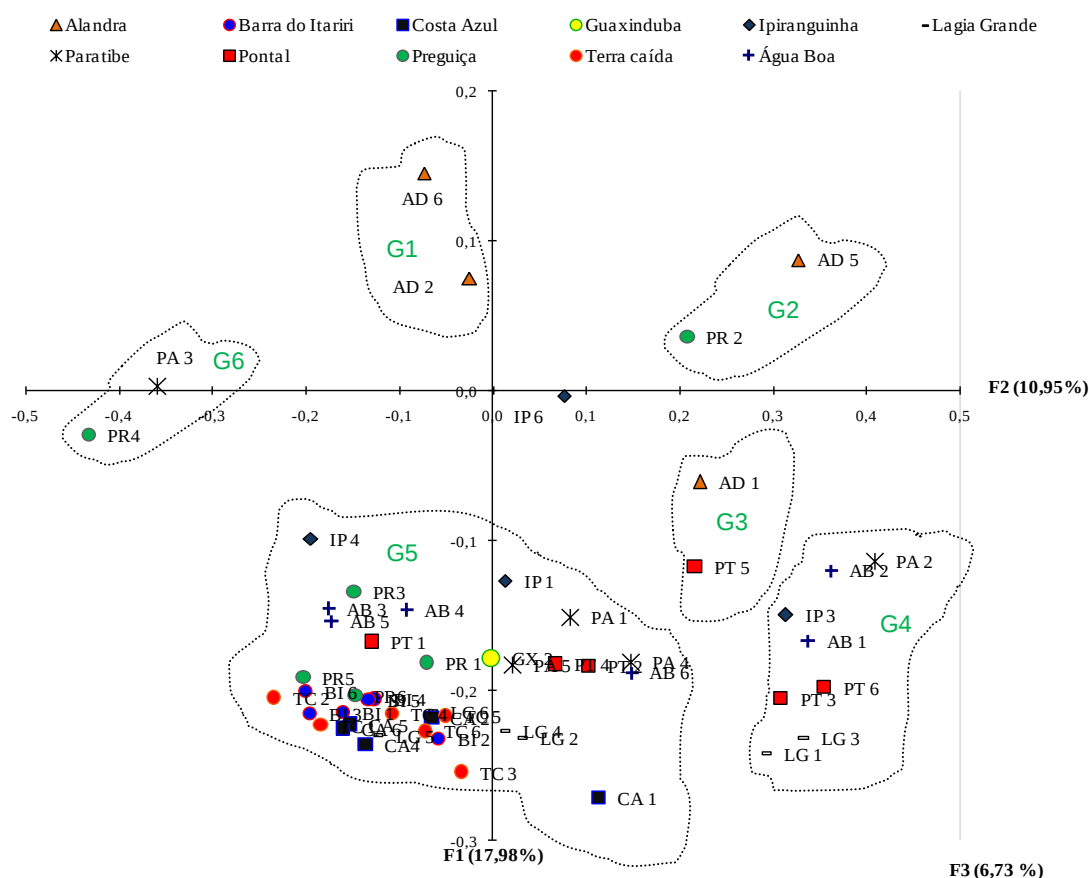


Figura 12 Análise de Coordenadas Principais (ACoP) para indivíduos do Banco Ativo de Germoplasma de mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros.

Analisando conjuntamente as informações entre agrupamento UPGMA e ACoP, observou-se que o indivíduo IP6 não foi agrupado, reforçando que este indivíduo é o mais divergente. O grupo 4 da análise de coordenadas, agrupou partes dos grupos G4, G5 e o G6 e G7 do agrupamento UPGMA. Há um grande número de indivíduos agrupados no grupo 5 da ACoP, sendo similar ao maior número de indivíduos reunidos no dendrograma (G2 e G3), indicando pouca divergência entre eles. Os indivíduos no acesso AD6 e AD2, se agruparam em posições diferentes no dendrograma; contudo, na ACoP estão relacionados. O mesmo ocorreu para o grupo 1 (AD6 e AD2); 3 (PR2 e AD5) e 6 (PA3 e PR4) da ACoP. Todos os indivíduos do acesso Terra Caída apresentaram-se ligados geneticamente nos dois agrupamentos.

Quando os acessos foram introduzidos, foram identificados de acordo com o local de coleta, ou seja, onze introduções com seis repetições de cada. Com a realização do presente trabalho, analisando cada indivíduo, foi verificado que essas repetições são na verdade genótipos distintos. Apenas os pares de indivíduos CA4 e CA5; CA1 e CA2 e PT2 e PT3 foram considerados duplicatas.

Os resultados indicam a existência de 49 acessos, o que representa importante conservação da diversidade no Banco Ativo de Germoplasma de mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros.

5. CONCLUSÕES

A técnica RAPD é eficiente na avaliação da diversidade genética em mangabeira.

O Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros apresenta amplitude e diversidade genética.

É de extrema importância o estudo da diversidade genética por mais de um método de agrupamento, a fim de reforçar a confiabilidade dos resultados obtidos.

O acesso Preguiça apresenta melhor estrutura genética, sendo potencial para futuros trabalhos de melhoramento.

Sugere-se que os pares dos indivíduos CA4 e CA5; CA1 e CA2 e PT2 e PT3 sejam duplicatas.

O Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros possui 49 acessos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADDINSOLFT. **XLSTAT statistical analysis software, versão 2010**. 2010. Disponível em: www.xlstat.com. Acesso em: 25 de março de 2010.
- ALLARD, R. W. **Princípio de melhoramento genético de plantas**. São Paulo: Edgard Blucher Ltda., 1971. 381p.
- ALVES, R. M. **Caracterização Genética de Populações de Cupuaçuzeiro, *Theobroma grandiflorum* (Wild. ex. spreng.) Schum., por marcadores microssatélites e descritores botânico-agronômicos**. 2002. 159 p. Tese (Doutorado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da USP, São Paulo, 2002.
- ARAÚJO, I. A. de; FRANCO, C. F. de O.; MARINHO, S. J. O.; FERREIRA, E. G. Avaliações físicas e de produção de frutos do banco ativo de germoplasma de mangaba da Emepa/PB no litoral paraibano. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, I., 2003, Aracaju. **Anais...** Aracaju: Embrapa - CPATC, 2003. 1 CD-ROM.
- ARRIEL, N. H.; DI MAURO, A. O.; DI MAURO, S. M.; BAKKE, O. A.; UNEDA-TREVISOLI, S. H. Técnicas multivariadas na determinação da diversidade genética em gergelim usando marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.5, p. 801-809. 2006.
- BARREIRA, S.; SEBBEN, A.M.; SCOLFORO, J.R.S.; KAGEYAMA, P.Y. Diversidade genética e sistema de reprodução em população nativa de *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish sob exploração. **Scientia Forestalis**, v. 71, p. 119-130. 2006.
- BERED, F.; BARBOSA NETO, J. F.; CARVALHO, F. I. F. de. Marcadores Moleculares e sua Aplicação no Melhoramento Genético de Plantas. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v.27, n. 3, p. 513-520. 1997.
- BROWN, A.H.D.; WEIR, B.S. Measuring genetic variability in plant populations, in Isozymes in Plant Genetics and Breeding, Part A (Tanksley SD, Orton TJ, Editors). **Elsevier Science Publishing**, Amsterdam. p. 219-239. 1983.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. **Alimentos Regionais Brasileiros/Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas de Saúde, Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição**. 1 ed., Brasília, 2002. 140p.
- BRONDANI, C.; BRONDANI, R. P. V.; RANGEL, P. H. **Utilização de marcadores moleculares em programas de ampliação de base genética de espécies cultivadas**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. 36 p.
- CASTRO, H. G. de; SILVA, D. J. H. da; OLIVEIRA, L. O. de; FERREIRA, F. A.; SAKIYAMA, N. S.; BARBOSA, L. C. de A.; JÚNIOR, J. I R. Diversidade genética entre acessos de Mentrasto avaliados por características botânico-agronômicas, moleculares e fitoquímicas. **Revista Ceres**, v. 51, n. 294, p. 227-241. 2004.
- CHEN, D.H.; ZEIGLER, R.S.; LEUNG, H.; N. R.J. Population structure of *Pyricularia grisea* in two screening sites in Philippines. **Phytopathology**, v. 85, p.1011-1020. 1995.
- CHIORATO, A. F.; CARBONELL S. A. M; BENCHIMOL, L. L.; CHIAVEGATO, M. B.; SANTOS DIAS, L. A. D.; COLOMBO, C. A. Genetic diversity in common bean accessions

evaluated by means of morpho-agronomical and RAPD data. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 64, n. 3, p. 256-262. 2007.

CRUZ, C.D. **Programa GENES: análise multivariada e simulação**. Viçosa; Editora UFV, 2006. 175 p.

DARRAULT, R. O.; SCHLINDWEIN, C. Limited Fruit Production in *Hancornia speciosa* (Apocynaceae) and Pollination by Nocturnal and Diurnal Insects. **Biotropica**, v. 37, n. 3, p. 381–388. 2005.

DAWSON, I. K. A. J.; SIMONS, R.; WAUGH, W. P. Diversity and genetic differentiation among subpopulations of *Gliricidia sepium* revealed by PCR-based assays. **Heredity**, v. 74, p. 10-18. 1995.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.12, n.1, p.13-15. 1990.

FAIRBANKS, D.J.; WALDRIGUES, A.; RUAS, P. M. Efficient characterization of biological diversity using field DNA extraction and random amplified polymorphic DNA markers. **Revista Brasileira de Genética**, Campinas, v.16, n.1, p.11-22, 1993.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3.ed. Brasília: Embrapa Cenargen, 1998.

FERREIRA, E. G.; MARINHO, S. J. O. Produção de Frutos de Mangabeira para consumo in natura e Industrialização. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.1, n.1, p.9-14. 2007.

GANGA, R. M. D. **Variabilidade de plantas e progênes de populações naturais de *Hancornia speciosa* do Cerrado**. 2008. 122p. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal de Goiás, Goiás. 2008.

GILLIES, A. C. M. J. P.; CORNELIUS, A. C.; NEWTON C.; NAVARRO M.; HERNÁNDEZ J. W. Genetic variation in Costa Rican populations of the tropical timber tree *Cedrela odorata* L. (Spanish cedar), assessed using RAPDs. **Molecular Ecology**, v. 6, p. 1133-1145. 1997.

GIACOMETTI, D. C. Descritores para caracterização e avaliação de germoplasma. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, I. 1988, Jaboticabal, SP. **Anais ...** Jaboticabal: UNESP - FCAV / EMBRAPA - CENARGEN, 1988, p.129-139.

GONÇALVES, L. A.; RODRIGUES, R.; SUDRÉ, C. P.; BENTO, C. dos S.; MOULIN, M. M.; ARAÚJO, M. L. de; DAHER, R. F.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. C. Diversidade genética em tomate estimada por marcadores RAPD em comparação com descritores multicategóricos. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 3. 2008.

IBGE. **Banco de dados agregados**: relatório do ano de 2007. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 22 de Julho, 2010.

JACCARD, P. Nouvelles Recherches sur la florale distribuição. Bul. Soc. **Science Vaudoise Natureles**, v. 44, p. 223-270. 1908.

JUNQUEIRA, K. P; FALEIRO, F. G.; RAMOS, J. D.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. Variabilidade genética de acessos de maracujá-suspiro com base em marcadores moleculares. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.29, n.3, p.571-575. 2007.

KRUSKAL, J. B. Escalonamento multidimensional não métrico: um método numérico. **Psychometrika**, vol.29, p.115-129. 1964

LYNCH, M.; MILLIGAN, B. G. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. **Molecular Ecology**, v. 3, p. 91-99. 1994.

MAGUIRE, T.L.; PEAKALL, R.; SAENGER, P. Comparative analysis of genetic diversity in the mangrove species *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. (Avicenniaceae) detected by AFLPs and SSRs. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 104, p. 388-398. 2002.

MONACHINO, J. A revision of *Hancornia* (Apocynaceae). **Lilloa**, Tucúman, v. 11, p. 19-48. 1945

MORAES, T. de M.; RODRIGUES, C. M.; KUSHIMA, H.; BAUAB, T. M.; VILLEGAS, W.; PELIZZON, C. H.; BRITO, A. R. M. S.; HIRUMA-LIMA, C. A. *Hancornia speciosa*: Indications of gastroprotective, healing and anti-*Helicobacter pylori* actions. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, p. 161–168. 2008.

MOTA, D. M. da; SCHMITZ, H.; SILVA JUNIOR, J. F. Da. Atores, canais de comercialização e consumo da mangaba no Nordeste brasileiro. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, Brasília, v. 46, p. 121-143. 2008.

MOURA, N. F., CHAVES, L. J., VENKOVSKY, L., ZUCCHI, M. I., PINHEIRO, J. B., MORAIS, L. K. de, MOURA, M. Seleção de marcadores RAPD para o estudo da estrutura genética de populações de *Hancornia speciosa* Gomes. **Journal of Bioscience**. Uberlândia, v. 21, n. 3, p 119-125. 2005.

NASS, L. L. **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. p. 858.

NARAIN, N.; GALVÃO, M. de S.; FERREIRA, D. da S.; NAVARRO, D. M. A. Flavor Biogenesis in Mangaba (*Hancornia Speciosa* Gomes) **Fruit Bioengineering**, Campinas, v. 1, n. 1, p. 25-31. 2007.

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

OLIVEIRA, D. A. de; PAULA, M. F. B. de; PIMENTA, M. A. S.; BRAGA, R. F.; FERREIRA, M. F. M.; RODRIGUES, L. A. Variabilidade Genética de Populações de Fava d'Anta (*Dimorphandra mollis*) da Região Norte do Estado de Minas Gerais. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 32, n. 2, p. 355-363, 2008.

PAGE, R. D. M. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. **Computer Applications in the Biosciences**, v.12, p.357-358. 1996.

PAVLICEK, A.; HRDA, S.; FLEGR, J. FreeTree – freeware program for construction of phylogenetic trees on the basis of distance data and bootstrap/jackknife analysis of the tree robustness. Application in the RAPD analysis of genus *Frenkelia*. **Folia Biology**, v. 45, p. 97-99. 1999.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P.E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. **Molecular Ecology Notes**, v. 6, 288-295. 2006.

PEREIRA, M. de F. Desenvolvimento de marcadores moleculares SSR e caracterização genética de populações naturais de *Annona crassiflora* Mart. do estado de Goiás. **Revista Biologia Neotropical**, v. 4, n. 2, p. 167-168. 2007.

PERRY, M. C.; MCINTOSH, M. S. Geographical patterns of variation in the USA soybean germplasm collection: I. Morphological traits. **Crop Science**, v. 31, p. 1350-1355, 1991.

RAMOS, S. R. R.; QUEIROZ, M. A. de; ROMÃO, R. L.; SILVA JUNIOR, J. F. da. Germoplasma vegetal conservado no nordeste brasileiro: situação atual, prioridades e perspectivas. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 20, n. 3, p. 205-217. 2008.

ROSA, M. E. C. da; NAVES, R. V.; JUNIOR, J. P. de O. Produção e Crescimento de Mudanças de Mangabeira (*Hancornia Speciosa* Gomez) em Diferentes Substratos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 35, n. 2, p. 65-70. 2005.

SÁ, A. J. **Avanços na propagação e conservação *in vitro* da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) nativa da região Nordeste**. 2009. 67p. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas). Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão. 2009.

SALOMÃO, A., N.; SANTOS, I. R. I.; MUNDIM, R. C. **Conservação, uso e manejo de *Hancornia speciosa* Gomez (Apocinaceae)**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004. 26p.

SHANNON, C. E.; WEAVER, W. **A Teoria Matemática da Comunicação**. University of Illinois Press: Urbana. 1949

SKROCH, P.W.; TIVANG, J.; NIENHUIS, J. Analysis of genetic relationships using RAPD marker data. **Proceedings of IUFRO International Conference**, Cali, v.2, n.3, p.23-30, 1992.

SILVA, A. V. C.; SANTOS, A. R. F. da; GÓIS, I. B.; WICKERT, C.; MUNIZ, E. N.; MANN, R. S.; SILVA JUNIOR, J. F. da; NARAIN, N. **Diversidade genética em mangaba utilizando marcadores moleculares RAPD**. In: XX Congresso Brasileiro de Fruticultura, I. 2008, Vitória, Anais... Vitória: ES, 2008.

SILVA, E. F. da; MARTINS, L. S. S.; OLIVEIRA, V. R. de. Diversity and genetic structure in cajá tree (*Spondias mombin* L.) populations in northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.31, n.1, p. 171-181. 2009.

SILVA, M. L.; QUEIROZ, M. A.; FERREIRA, M. A. J. F.; BUSO, G.S. C. Caracterização morfológica e molecular de acessos de melancia. **Horticultura Brasileira**, v.2, p 405-409. 2006.

SILVA, M. L. da. Caracterização morfológica e molecular de acessos de melancia [*Citrus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai]. 2004. 72 p. Dissertação (Mestrado em Genética). Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2004.

SILVA JUNIOR, J. F. A cultura da mangaba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.1, 2004.

SILVA JUNIOR, J. F.; LEDO, A. S. Botânica. In: SILVA JUNIOR, J. F.; LEDO, A. S. (Ed) **A cultura da mangaba**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, p.25-33. 2006

SOARES F. P.; PAIVA R.; NOGUEIRA R. C.; OLIVEIRA L.M. de; SILVA D. R. G.; PAIVA P. D. O. **CULTURA DA MANGABEIRA (*Hancornia speciosa* GOMES)**. Boletim Agropecuário, Lavras nº. 67, p. 1-12. 2009.

SOARES F. P.; PAIVA R.; CAMPOS, A. L.; PORTO, J. M. P.; NOGUEIRA R. C.; STEIN, V. C. Germinação de Sementes de Mangabeira (*Hancornia speciosa* GOMES) em Diferentes Substratos. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 1180-1182. 2007.

SUNNUCKS, P. Efficient genetic markers for population biology. **Trends in Ecology and Evolution**, v.15, p.199-1203. 2000

VIEIRA, L. R.; NODARI, R. O. Diversidade genética de cultivares de alho avaliada por marcadores RAPD. **Ciência Rural**, v. 37, n.1. 2007.

VIEIRA NETO, R.D.; SILVA JUNIOR, J.F.da; LEDO, A. da S. Mangaba. In: SANTOS-SEREJO, J.A.dos; DANTAS, J.L.L.; COELHO, C.V.S.; COELHO, Y.S. (Org.). **Fruticultura Tropical espécies regionais e exóticas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009, p. 323-338.

WOLF, K; EL-AKKAD, S; ABBOT, R. J. Population structure in *Alkannaorientalis* (Boraginaceae) in the Sinai Desert, in relation to its pollinator behavior. **Molecular Ecology**, v. 6, p. 365-372. 1997.