



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

**ELABORAÇÃO E APLICAÇÃO DE DESCRITORES
MOLECULARES, MORFOLÓGICOS E FÍSICO-QUÍMICOS PARA
CARACTERIZAÇÃO DE GERMOPLASMA DE MANGABEIRA**

MARINA FERREIRA DA VITÓRIA

2017



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

MARINA FERREIRA DA VITÓRIA

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

Orientadora

Dra. Ana Veruska Cruz da Silva

Co-orientadora

Dra. Vânia Cristina Rennó Azevedo

**SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL
2017**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

V845e Vitória, Marina Ferreira da
Elaboração e aplicação de descritores moleculares, morfológicos e físico-químicos para caracterização de germoplasma de mangabeira / Marina Ferreira da Vitória ; orientadora Ana Veruska Cruz da Silva. – São Cristóvão, 2017.
55 f. : Il.

Dissertação (mestrado em Agricultura e Biodiversidade) –Universidade Federal de Sergipe, 2017.

1. Mangabeira. 2. *Hancornia speciosa*. 3. Geodiversidade. 4. Recursos do germoplasma I. Silva, Ana Veruska Cruz da, oriente. II. Título.

CDU: 606:582.923.5

MARINA FERREIRA DA VITÓRIA

**ELABORAÇÃO E APLICAÇÃO DE DESCRITORES MOLECULARES,
MORFOLÓGICOS E FÍSICO-QUÍMICOS PARA CARACTERIZAÇÃO DE
GERMOPLASMA DE MANGABEIRA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

APROVADA 17 de fevereiro de 2017.

Prof^a. Dra. Ana da Silva Léo
PPGAGRI-UFS/ Embrapa Tabuleiros
Costeiros

Prof^a. Dra. Gilmara Mabel Santos
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof^a. Dra. Ana Veruska Cruz da Silva
PPGAGRI-UFS/ Embrapa Tabuleiros Costeiros
(Orientadora)

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, por ter me concebido forças e pelo dom da vida.

Aos meus pais Henrique e Roze, por todo carinho, dedicação, cuidado e por terem semeado em mim conceitos de respeito, luta e retidão, fundamentais na formação do que sou hoje, ensinamentos e aprendizados que servirão para toda a minha vida

Ao meu fiel irmão André, pelo apoio, amor, compreensão e incentivo durante todos os obstáculos da minha vida.

A todos que fazem parte da minha família, pela torcida e incentivo.

Ao Programa de Pós Graduação em Agricultura e Biodiversidade (PPGAGRI), pela oportunidade de realização do curso e a instituição financiadora CAPES pela bolsa concedida.

À minha orientadora Dra. Ana Veruska Cruz da Silva, pela amizade, confiança, conselhos e ensinamentos transmitidos durante todos os últimos anos.

À minha co-orientadora Dra. Vânia Rennó Azevedo, pela receptividade, ensinamentos e contribuições a pesquisa.

Aos membros da banca examinadora, Dra. Ana Léo, Dra. Gilmar Santos e Dra. Ana Veruska, pelas valiosas contribuições para a finalização deste trabalho.

À toda equipe da Embrapa Tabuleiros Costeiros, por ter me disponibilizado toda a estrutura e apoio.

Agradeço especialmente aos meus amigos e colegas do Laboratório de Biologia Molecular, Marília, Aline, Ana Letícia, Priscilla, Jéssica, Adrielle, Grazi, Alex, Sílvio, Inácio, pelas coletas de campo, experiências compartilhadas, aprendizados, paciência e apoio.

À Embrapa Cenargen e a todos que fazem parte do Laboratório de Genética Vegetal (LGV), em especial Lorena, Lucileide, Zilneide, Natasha, Moisés e Petter, pela estrutura oferecida, acolhimento e apoio, que proporcionaram o enriquecimento do meu trabalho.

A Carlos Augusto da Silva, pelo apoio, amor, paciência e contribuição profissional e pessoal à minha vida.

A Flávio Mota, por toda disponibilidade, atenção e auxílio nas análises.

À Tatiana Santos Costa, pela amizade, carinho, atenção e principalmente pelas horas de apoio nos momentos mais difíceis.

A todos os meus amigos e colegas do PPGAGRI, em especial Valter e Jéssika, que contribuíram e vivenciaram comigo a experiência desse mestrado.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	<i>i</i>
LISTA DE TABELAS	<i>viii</i>
RESUMO	<i>ixii</i>
ABSTRACT	<i>iv</i>
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Aspectos gerais da Mangabeira	3
2.2. Conservação de Recursos Genéticos	5
2.3. Descritores morfológicos, físico-químicos e moleculares	7
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	9
4. ARTIGO 1: DESCRITORES MORFOLÓGICOS E FÍSICO-QUÍMICOS PARA CARACTERIZAÇÃO DE GERMOPLASMA DE MANGABEIRA	16
RESUMO -	16
ABSTRACT –	17
4.1. Introdução	18
4.2. Material e Métodos	19
4.3. Resultados e Discussão	21
4.4. Conclusões	29
4.5. Referências Bibliográficas	30
5. ARTIGO 2: DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA EM GERMOPLASMA DE MANGABEIRA UTILIZANDO MARCADORES MICROSSATÉLITES	34
RESUMO	34
ABSTRACT	35
5.1. INTRODUÇÃO	36
5.2. MATERIAL E MÉTODOS	37
5.3. RESULTADOS	41
5.4. DISCUSSÃO	48
5.5. CONCLUSÕES	50
5.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	54

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Mangabeira (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes).	4
2	Vista aérea do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros, em Itaporanga d'Ajuda, SE.	7

ARTIGO 1: DESCRITORES MORFOLÓGICOS E FÍSICO-QUÍMICOS PARA CARACTERIZAÇÃO DE GERMOPLASMA DE MANGABEIRA

Figura		Página
1	Procedência dos acessos do BGMangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros, utilizando para a avaliação dos descritores morfológicos e físico-químicos.	20
2	Estimativas e agrupamento das correlações de Pearson entre os descritores quantitativos pelo método UPGMA, a partir da distância euclidiana média padronizada, para características morfológicas e físico-química em 10 acessos do BGMangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros.	27
3	Análise fatorial múltipla dos descritores quantitativos avaliados em acessos do Banco Ativo de Germoplasma de mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros.	28
4	Análise de componentes principais (ACop), com variância total de 37,6%, utilizando descritores morfológicos e físico-químicos em 10 acessos do BGMangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros.	29

ARTIGO 2: ESTIMATIVA DA DIVERSIDADE GENÉTICA EM GERMOPLASMA DE MANGABEIRA POR MARCADORES SSR

Figura		Página
1	Procedência dos acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros.	38
2	Coeficiente de variação para o número de fragmentos polimórficos utilizando marcadores microssatélites entre 22 acessos do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Tabuleiros Costeiros..	42
3	ΔK para cada valor de K, calculado de acordo com o proposto por Evanno et al. (2005).	46
4	Representação dos 22 acessos de <i>Hancornia speciosa</i> Gomes do Banco Ativo de Germoplasma em 2 grupos com 9 marcadores microssatélites, utilizando o programa Structure.	46
5	Dendrograma de 213 indivíduos com base na matriz de dissimilaridade genética (índice de média ponderada).	47

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1: DESCRITORES MORFOLÓGICOS E FÍSICO-QUÍMICOS PARA CARACTERIZAÇÃO DE GERMOPLASMA DE MANGABEIRA

Tabela		Página
1	Origem e número de acessos do BGMangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros em fase de frutificação utilizados para avaliação dos descritores morfológicos e físico-químicos, Itaporanga d'Ajuda, SE.	19
2	Descritores morfológicos quantitativos para avaliação de germoplasma de mangabeira	20
3	Descritores de qualidade do fruto para avaliação de germoplasma de mangabeira.	21
4	Características morfológicas quantitativas e características físico-químicas entre os acessos do BG Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros.	24

ARTIGO 2: ESTIMATIVA DA DIVERSIDADE GENÉTICA EM GERMOPLASMA DE MANGABEIRA POR MARCADORES SSR

Tabela		Página
1	Dados de passaporte dos acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros. .	37
2	Relação dos pares de marcadores microssatélites utilizados para estudo de diversidade genética em germoplasma de mangaba (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes).	39
3	Diversidade genética dentro dos acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros, obtida a partir de nove locos de microssatélites.	41
4	Diversidade genética dentro dos acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros, obtida a partir de nove locos de microssatélites.	42
5	Matriz de divergência genética com estimativas de F_{st} entre os diferentes acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba, Itaporanga d'Ajuda, Sergipe.	44
6	Índices de diversidade genética entre acessos (GST, FST, RST), índice de fixação total (FIT) e índice de fixação dentro das populações (FIS) obtidos para diferentes acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros..	45
7	Análise de variância molecular (AMOVA) realizada para os 22 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba, analisadas a partir de 9 marcadores moleculares SSR	45

RESUMO

VITÓRIA, Marina Ferreira da. **Elaboração e aplicação de descritores moleculares, morfológicos e físico-químicos para caracterização de germoplasma de Mangabeira**. São Cristóvão: UFS, 2017. 55p. (Dissertação– Mestrado em Agricultura e Biodiversidade). *

Frutífera nativa do Brasil, a mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) é uma espécie de cultivo predominantemente extrativista, que ocorre em várias regiões do país. A região Nordeste detém 99% de toda a produção, e o estado de Sergipe é o maior produtor. O potencial para o aproveitamento da polpa é bastante variado, é utilizada para o consumo *in natura* e industrialização de diversos alimentos e bebidas. Para ampliar a base de dados e conhecimento da variabilidade desta espécie, bem como dar suporte à sua domesticação, é necessário que se realizem estudos de caracterização e de diversidade genética. O presente trabalho foi desenvolvido com a finalidade de indicar e avaliar descritores morfológicos, físico-químicos e moleculares em germoplasma de mangaba. O Banco de Germoplasma de Mangaba (BGMangaba) da Embrapa Tabuleiros Costeiros foi implantado em 2006 e possui 213 indivíduos, que representam 22 acessos. Para a caracterização morfológica e físico-química, 21 descritores foram utilizados em 54 plantas, oriundas de 10 acessos em fase de frutificação. Observou-se ampla variação e significância entre e dentro dos acessos, sem relação direta com a sua origem. Quatorze descritores foram considerados de significativa importância para estudos de caracterização de mangabeira, sem perda de informações na caracterização. Os acessos que apresentaram valores mais significativos foram AB, BI, CA, LG TC com maior desenvolvimento quando comparado aos demais, os acessos TC, AB, AD, se destacam como atrativos, por suas características físico-químicas, e os acessos BI e TC com frutos de maiores massas, característica de interesse para o consumo *in natura* e processamento agroindustrial. Todos os acessos do BGMangaba foram utilizados para a caracterização molecular e estrutura genética, utilizando nove marcadores microssatélites (SSR). Observou-se 100% de polimorfismo com o uso dos SSR. Foram identificados 147 alelos, com média de 16 alelos por loco. A confiabilidade foi verificada com valores de estresse (0,042) e de correlação (0,988). Os alelos apresentaram alta frequência de heterozigosidade ($H_e > H_o$). Os valores de F_{st} (0,22) e de f (0,07) indicaram moderada estrutura populacional, sendo apresentada maior diversidade dentro dos acessos. A análise Bayesiana indicou um agrupamento com $k=2$, confirmado com o UPGMA. Foram formados dois grupos distintos, agrupados de acordo com a similaridade. Os pares de indivíduos PM5 e GX2; CN1 e CN9; G18 e PA1; JA14 e JA15; OI8 e OI9, todos pertencentes ao G2 foram os mais próximos geneticamente. A combinação dos descritores utilizados nesse estudo, favorece a identificação de indivíduos mais divergentes e com características de interesse. A diversidade entre e dentro dos acessos foi confirmada com as análises moleculares. Os resultados irão colaborar nas estratégias de conservação desse material e futuros programas de melhoramento. A proposta de descritores será utilizada pela FAO/Biodiversity.

Palavras-chave: *Hancornia speciosa* Gomes, diversidade genética, atributos de qualidade, recursos genéticos.

* Comitê Orientador: Ana Veruska Cruz da Silva Muniz – Embrapa Tabuleiros Costeiros/UFS (Orientadora), Vânia Cristina Rennó Azevedo – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (co-orientadora).

ABSTRACT

VITÓRIA, Marina Ferreira da. **Development and application of molecular descriptors, morphological and physico-chemical for germplasm characterization Mangaba tree.** São Cristóvão: UFS, 2017. 55p. (Dissertation– Master of Science in Agriculture and Biodiversity).*

Trees native to Brazil, mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) is a species mainly extractive, occurrence in various regions of the country. The Northeast holds of 99% of all production, being the Sergipe state the largest producer. The potential for the use of the pulp is quite varied, is used for fresh consumption and industrialization of various foods and drinks. The species has been threatened with extinction by several factors that are contributing to reduction of their naturally occurring areas. To enlarge the database for the use and knowledge of the variability of this species, as well as support to its domestication, it is necessary to carry out studies and characterization of genetic diversity. The present work was developed with the purpose to display and evaluate morphological descriptors, physico-chemical and molecular in germplasm of mangaba. The genebank of mangaba (BGmangaba) of Embrapa Coastal Tablelands was implemented in 2006 and has 213 individuals, representing 22 accessions. For morphological and physico-chemical characterization, 21 descriptors were used on 54 plants, from 10 access on fruit-bearing stage. There was wide variation and significance among and with access, without direct relationship with its origins. Fourteen descriptors were considered of significant importance for studies of characterization of mangaba, without loss of information on characterization. The accesses that presented the most significant values were AB, BI, CA, LG, TC, with greater development when compared to the others, the accesses TC, AB, AD, stand out as attractive, due to their physicochemical characteristics and the accesses BI and TC with fruits of larger masses, characteristic of interest for the in natura consumption and agroindustrial processing. All accesses of the BAG were used for molecular characterization and genetic structure, using nine microsatellite markers (SSR). 100% of polymorphism was observed with the use of SSR. 147 alleles were identified, with an average of 16 alleles for loco. Reliability was verified with stress values (0.042) and correlation (0.988). The alleles showed high frequency of heterozygosity ($H_o > H_e$). F_{st} values (0.22) and f (0.07) indicated moderate population structure, being presented greater diversity within the traffic. Bayesian analysis indicated a group with $k=2$, confirmed with the UPGMA. Were formed two distinct groups, grouped according to similarity. The pairs of individuals PM5 and GX2; CN1 and CN9; G18 and PA1; JA14 and JA15; OI8 and OI9, all belonging to the G2 were those closest genetically. The combination of the keywords used in this study, favors the identification of different individuals and with features of interest. The germplasm evaluated has diversity among and within access. The results will collaborate in the conservation of this material strategies and future breeding programs. The proposed descriptors will be used by FAO/Biodiversity.

Keywords: *Hancornia speciosa* Gomes, genetic diversity, quality attributes, genetic resources.

* Guidance Committee: Ana Veruska Cruz da Silva Muniz – Embrapa Coastal Tablelands/ Federal University of Sergipe (Adviser), Vânia Cristina Rennó Azevedo – Embrapa Genetic Resources and Biotechnology (Co-adviser).

1. INTRODUÇÃO GERAL

A mangabeira (*Harconia speciosa* Gomes) é uma espécie frutífera nativa do Brasil, encontrada em várias regiões do país, desde os Tabuleiros Costeiros e Baixada Litorânea do Nordeste, estendendo-se até os Cerrados das regiões Centro-Oeste, Norte e Sudeste (SILVA JUNIOR, 2004). Seu nome é de origem indígena tupi-guarani e significa “coisa boa de comer” (FERREIRA, 1973).

A produção do fruto, predominantemente extrativista, foi de 685 toneladas, em 2014, sendo que a região Nordeste corresponde a 99% da produção brasileira. O estado de Sergipe é o maior produtor de mangaba do país, com 353 toneladas, que corresponde a 51,5% da produção nacional (IBGE, 2014). Cerca de 90% dos frutos comercializados provem de áreas nativas, nas quais as populações tradicionais praticam o extrativismo. A comercialização da mangaba representa uma importante fonte de renda para estas populações (LIMA e SCARIOT, 2010). Apesar de algumas ações sociais e de pesquisa, principalmente nos estados de Sergipe e Paraíba, ainda não existem áreas de plantio homogêneo e tecnificado para a espécie no Brasil.

O potencial para o aproveitamento da mangabeira é bastante variado, sendo utilizada para o consumo *in natura* e industrialização de polpa, sucos, coquetéis, doces em calda, geleias, sorvetes, licores, vinhos, xaropes, demonstrando potencial para a agroindústria. O fruto apresenta um alto valor nutritivo, bem como características de usos medicinais, sendo utilizada principalmente por comunidades extrativistas (FERREIRA e MARINHO, 2007).

Atualmente, as áreas de ocorrência natural da espécie tem diminuído principalmente por fatores como a expansão imobiliária no litoral nordestino, o desmatamento e a exploração extrativista não sustentável.

Dentro desse cenário de ameaças, pesquisas que busquem explorar as características dendrológicas e a variação genética de espécies nativas, como a mangaba, são de suma importância, pois nelas são estudados os aspectos sobre a domesticação e a introdução de espécies não domesticadas nos sistemas produtivos, além de propor estratégias para sua conservação (GANGA et al., 2010).

Os Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) são considerados uma alternativa para a conservação dos recursos genéticos. Podem ser formados por plantas, anteras, sementes, tecidos, células ou estruturas mais simples, mantendo disponível o máximo de diversidade genética, conservada *in situ* ou *ex situ* (OLIVEIRA, 2005). Dentro de um BAG as principais atividades são enriquecimento (coleta e intercâmbio), conservação, caracterização, avaliação do germoplasma (BESPALHOK et al., 2007) e disponibilização para uso.

Na década de 70, a FAO (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura) estimulou o estabelecimento de uma rede mundial de Centros para conservação de recursos genéticos

situados em regiões consideradas de alta variabilidade genética. Em 1974 o CGIAR (Grupo Consultivo para Investigação Agrícola Internacional) criou o *International Board for Plant Genetic Resources* (IBPGR e IPGRI), atualmente denominado Bioversity Internacional. Esse órgão tem contribuído para elaboração de descritores de várias espécies, com terminologia padronizada para possível aplicação em diferentes locais (BURLE e OLIVEIRA, 2010).

Apesar da lista de descritores mínimos da espécie ainda não ter sido publicada, estudos de caracterização tem possibilitado a indicação de alguns descritores morfológicos (FREITAS et al., 2012; SILVA et al., 2011; GANGA et al., 2010) e descritores físico-químicos dos frutos (PLÁCIDO et al., 2016; NASCIMENTO et al., 2014; SILVA et al., 2013; SILVA et al., 2012). Com a detecção da variabilidade de mangabeiras, torna possível a seleção de frutos de qualidade, com potencial de utilização, comercialização da polpa e processamento de produtos pela indústria. O Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira (BGMangaba) da Embrapa Tabuleiros Costeiros foi implantado em 2006 e é um exemplo de sucesso na conservação *ex situ* dos recursos genéticos de uma espécie nativa do Brasil. Nele são realizadas atividades de prospecção, coleta, enriquecimento, propagação, desenvolvimento de protocolos para multiplicação *in vitro* e avaliação das matrizes e progênies.

A caracterização dos acessos disponíveis de um BAG é fundamental para se conhecer o germoplasma conservado e estimar sua diversidade genética entre e dentro de cada acesso. Ela permite a elaboração de estratégias para aumentar a variabilidade genética, além de identificar duplicatas e indivíduos com características superiores para um futuro programa de melhoramento (COSTA et al., 2011).

Pesquisas sobre a diversidade genética em mangabeirassão recentes. O uso dos marcadores moleculares, complementam a caracterização morfológica, por detectar o polimorfismo ao nível do DNA e não sofrerem interferência ambientais (FERREIRA e GRATTAPLAGIA, 1998). Alguns trabalhos já foram realizados com o intuito de descrever a variabilidade presente em populações naturais (MOURA et al., 2005; SOUZA et al., 2010; SILVA et al., 2012; AMORIM et al., 2015; SOARES et al., 2016) e em bancos de germoplasma (COSTA et al., 2011; SILVA et al., 2011).

O presente trabalho foi desenvolvido com a finalidade de indicar e avaliar descritores morfológicos, físico-químicos e moleculares, além de estimar a diversidade genética no Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos gerais da Mangabeira

A mangabeira pertence ao grupo das Eudicotiledôneas, ordem Gentianales, da família Apocynaceae, gênero *Hancornia* e a espécie *Hancornia speciosa* apresenta seis variedades botânicas: *H. speciosa* Gomes ou *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* (MONACHINO, 1945). A espécie é nativa do Brasil, frutífera de clima tropical e encontrada nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste do país (SILVA JUNIOR, 2004).

No estado de Sergipe é encontrada naturalmente a variedade *Hancornia speciosa* Gomes, árvore de porte médio, que atinge de 5 a 7 m de altura, e de 4 a 6 m de diâmetro de copa (Figura 1A). Suas flores (Figura 1B) são hermafroditas, hipocrateriformes, de coloração branca e perfumadas. Possuem tubo floral longo e estreito, com coloração branca, aromática e campanulada. Dispostas em inflorescência em dicásio terminal, com 2 a 5 flores hermafroditas (MONACHINO, 1945). As folhas são opostas, simples, pecioladas, glabras, brilhantes e coriáceas (SOARES et al., 2006), medindo cerca de 5 a 6 cm de comprimento e 2 cm de largura. O fruto (Figura 1C) é uma baga ovóide e globosa, verde amarelada ou verde rosada. Cruz (1979) classificou os frutos como baga piriforme, com manchas avermelhadas na superfície, desementes comprimidas e triangulares. O seu tronco é tortuoso, ramificado e áspero, com ramos lisos e avermelhados (Figura 1D).

A mangabeira é uma planta perenifólia de clima tropical, que ocorre em áreas com temperaturas médias entre 24 e 26°C. Seu desenvolvimento vegetativo é maior nas épocas com temperaturas elevadas e a pluviosidade ideal varia entre 750 e 1.600 mm anuais. Desenvolvem-se em solos pobres e arenosos (SOARES et al., 2006). No litoral do Nordeste, a mangabeira apresenta duas florações e frutificações durante todo o ano (SILVA JÚNIOR e LÉDO, 2006). Em Sergipe, a frutificação ocorre de novembro a julho, com a safra de verão ocorre de dezembro a abril e, a de inverno, de maio a julho (SILVA JÚNIOR et al., 2003).

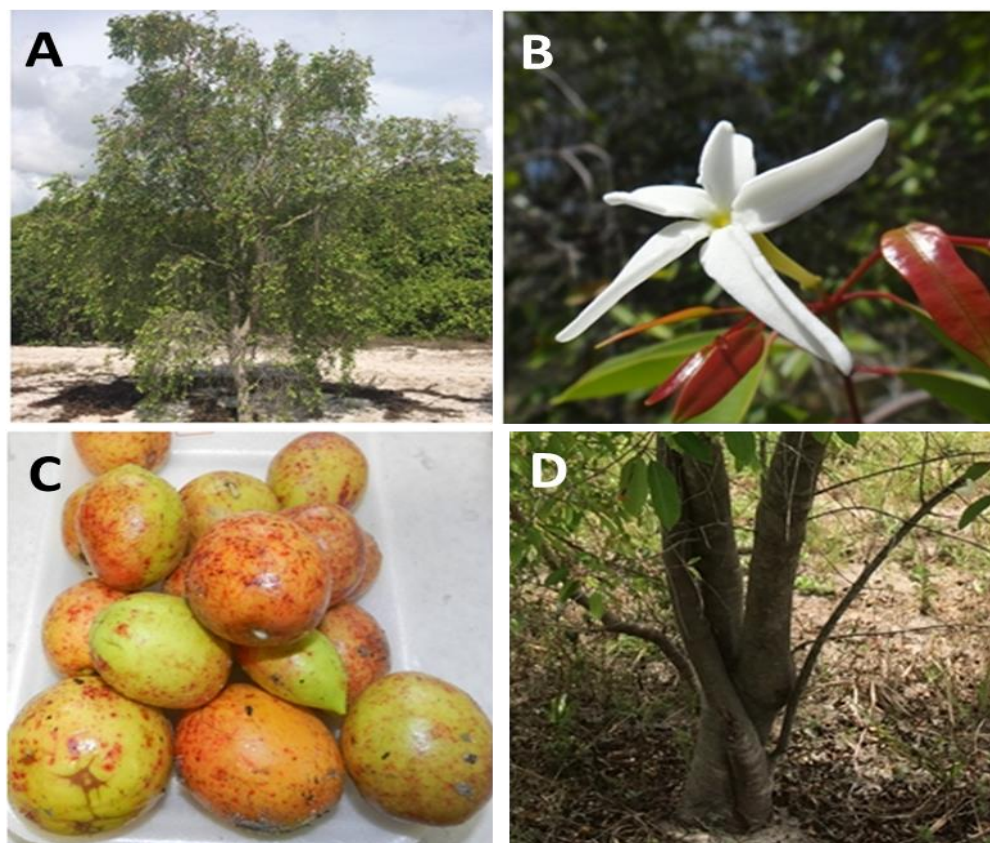


Figura 1. Mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). A - Planta adulta; B - Flor da Mangabeira; C Frutos no estágio de maturação; D - Tronco tortuoso e bifurcado. Fotos: Marina Ferreria da Vitória, 2017.

A espécie é alógama e auto-incompatível (DIAS e MARANHÃO, 1994), portanto, necessita de genótipos diferentes e polinizadores específicos para frutificar. Assim, com o aumento da frequência de polinizadores eleva-se a taxa de frutificação, e a formação de frutos maiores e maior número de sementes (OLIVEIRA et al., 2014). Os polinizadores da mangabeira pertencem aos grupos taxonômicos: Sphingidae, Euglossini (abelhas), Hesperidae e Nymphalidae (*Heliconius* spp.) (DARRAULT e SCHLINDWEIN, 2006).

A mangabeira inicia a sua produção entre o terceiro e o quinto ano após o plantio, sendo que, a partir do quinto ano, a cultura pode proporcionar produtividades de 10 a 12 t/ha (SILVA JUNIOR, 2004). Sua colheita é feita manualmente, diretamente na árvore ou no chão, denominados “frutos de caída” (SILVA et al., 2013).

Os frutos apresentam teor de proteína superior à maioria dos frutos tropicais, são ricos em vitaminas A, B₁, B₂ e C, além dos teores de ferro, fósforo e cálcio (LEDERMAN et al., 2000). A polpa da fruta revela alto nível de compostos fenólicos e ácido ascórbico, que proporcionam uma alta atividade antioxidante (LIMA et al., 2015; RUFINO et al., 2010). Altos teores de sólidos solúveis e acidez presentes nos frutos, proporcionam a mangaba um sabor muito apreciado pelos consumidores (SOARES et al., 2006).

Na medicina popular, o látex na mangabeira, presente em todas as variedades botânicas, é recomendado contra a tuberculose, úlceras, herpes, dermatoses e verrugas (SOARES et al., 2006; POTT e POTT, 1994). A casca é usada contra hipertensão, estômago, distúrbios e doenças inflamatórias (ALMEIDA et al., 2014; MORAIS et al., 2008). Suas folhas podem ser usadas na forma de chá no combate às cólicas menstruais (LIMA e SCARIOT, 2010) e no tratamento de hipertensão (SILVA et al., 2016)

A mangabeira, embora seja uma frutífera pouco cultivada em plantio comercial, sofre ataques por pragas e doenças. As doenças como a mancha parda, podridão das raízes, antracnose, seca dos ramos constituem ameaças nos cultivos de escala comercial (SILVA JÚNIOR e LEDO, 2006).

2.2. Conservação de Recursos Genéticos

Os Recursos Genéticos são definidos como materiais biológicos com valor econômico para o homem, bem como animais, plantas, microorganismos, entre outros (COSTA, SPEHAR e SERENO, 2012). Assim, compreendem as variedades tradicionais, variedades melhoradas e linhas avançadas. São portadores de genes de grande significado para o melhoramento genético, embora possam estar ameaçadas de extinção por várias causas, dependendo da espécie (QUEIRÓZ, 1999).

O estudo dos recursos genéticos é essencialmente interdisciplinar, oferecendo oportunidade para execução de parcerias em várias atividades como na coleta ou introdução de materiais, multiplicação sexuada e assexuada, preservação, caracterização, avaliação e conservação (HAWKES, 1982). Desta forma, programas que venham a dar condições para manutenção da espécie no local natural de ocorrência (*in situ*) ou fora do local de ocorrência (*ex situ*) são indispensáveis.

A mangabeira, apesar de ampla distribuição por quase todo o território brasileiro, vem sofrendo uma drástica redução populacional em função da intensa diminuição na área original dos ecossistemas em que ocorre, principalmente nos Tabuleiros Costeiros e Baixadas Litorâneas nordestinas. Mota et al. (2007), afirmam que 90% de todo o fruto comercializado no Estado provém de áreas nativas que se encontram sob ameaças de supressão. A exploração insustentável e o desmatamento nas regiões de ocorrência natural contribuem para a redução das áreas de ocorrência natural de mangabeirs (LEDERMAN et al., 2000; LEDERMAN e BEZERRA, 2003).

A implantação de plantios comerciais é uma alternativa de redução da pressão antrópica que a espécie vem sofrendo. A aplicação da cultura de tecidos possibilita superar as dificuldades de propagação via sexuada, devido a recalcitrância das sementes, com a micropropagação de genótipos de interesse e conservação de material *in vitro* (SILVA JÚNIOR e LEDO, 2006; PINHAL et al., 2011). O germoplasma de mangabeira pode ser conservado de duas formas: na forma de coleções de

plantas vivas, mantidas *ex situ*, ou por meio de conservação *in situ* em áreas de preservação permanente ou reserva (BORÉM e MIRANDA, 2009).

O *Bioversity International* vem concentrando esforços para a sistematização dos estudos sobre Recursos Genéticos, fortalecendo a consciência para a importância destes, a fim de que seja conservada e mantida, para gerações atuais e futuras, uma grande quantidade de acessos de muitas espécies (BIOVERSITY INTERNATIONAL, 2007).

Existe a necessidade de conservação dos recursos genéticos, bem como das informações sobre a variação genética dos mesmos. O mundo passa por constantes mudanças climáticas, erosão e perda de diversidade genética, sendo imprescindíveis diferentes estratégias de conservação (NASS, 2007). Os BAGs conservam o material fora do habitat da espécie, *ex situ*, com significativa amostra da diversidade genética da espécie em foco, fato crucial para o estabelecimento da conservação.

A EMBRAPA trabalha na conservação de recursos genéticos desde 1974, sendo que em 2009 foi criada a Rede de recursos genéticos vegetais (Rede Nacional). A Rede Nacional mantém no país 383 BAGs, sendo 140 pertencentes a Embrapa e 243 a outras instituições do Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária (SNPA) (FAO, 2009). No nordeste brasileiro, existem BAGs e coleções de trabalho de fruteiras tropicais, oleícolas, forrageiras, grãos, fibrosas e oleaginosas, totalizando aproximadamente 21 BAGs, que conservam cerca de 15 mil acessos (NASS, 2007).

No Brasil, estudos indicam a existência de sete bancos ativos de germoplasma de mangabeira, que estão distribuídos na Embrapa Cerrados, Embrapa Tabuleiros Costeiros, Embrapa Amapá, Embrapa Meio Norte, Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba - Emepa; Universidade Federal de Alagoas e Universidade Federal de Goiás (GANGA, 2008, RAMOS et al., 2008).

O BGMangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros, localiza-se no Campo Experimental de Itaporanga, no município de Itaporanga d'Ajuda/SE, às margens da rodovia SE 100, nas coordenadas 11°06'40" de Latitude Sul e 37°11'15" de Latitude Oeste, distante 28 km de Aracaju (Figura 2). O BAG foi implantado em 2006, em área de restinga, e atualmente possui 213 indivíduos, que representam 22 acessos. A propagação feita por sementes de polinização aberta, de matrizes coletadas em populações naturais nos Estados da Bahia, Paraíba, Sergipe, Pernambuco, Alagoas, Ceará, Pará e Minas Gerais. Os acessos estão plantados com espaçamento de 6 metros entre plantas e 7 metros entre acessos, nominados de acordo com a localidade na qual as amostras foram coletadas (Anexo 1). O Banco foi criado com o intuito de realizar pesquisas que visam à prospecção, coleta, caracterização, conservação *ex situ* e utilização de uma ampla variabilidade dos recursos genéticos da mangabeira de ocorrência nos ecossistemas de Tabuleiros Costeiros e Baixada litorânea do Nordeste e em áreas adjacentes (SILVA JÚNIOR e LÉDO, 2006).

Estudos de caracterização morfoagronômicas, físico-química dos frutos e molecular têm sido realizados dentro do BGMangaba. A caracterização molecular dos primeiros acessos foi realizada por

Costa et al. (2011) e Silva et al. (2011), utilizando marcadores RAPD (DNA polimórfico amplificado ao acaso) e confirmaram a alta variabilidade genética existente entre os acessos. Silva et al. (2015) realizaram a caracterização física, físico-química e química dos frutos oriundos da primeira colheita realizada em acessos do BAG.



Figura 2. Vista aérea do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros, em Itaporanga d’Ajuda, SE. Foto: Valter Ferreira Rocha Júnior, 2017.

2.3. Descritores morfológicos, físico-químicos e moleculares

A utilização de caracteres morfoagronômicos em análises de diversidade genética também são importantes em estudos de estratégias de conservação. Estes caracteres possibilitam a quantificação da variabilidade genética de forma eficiente, e fazem parte das primeiras etapas do estabelecimento de um programa de conservação ou melhoramento genético (MORALES et al., 2011).

A caracterização por meio de descritores morfoagronômicos é útil para identificar o germoplasma, fornecer uma integridade genética entre os acessos conservados e informações para o manejo e uso do recurso genético conservado. Em plantas perenes, como a mangabeira, a caracterização morfoagronômica executa uma função preponderante para eliminar duplicatas, reduzir custos de manutenção e identificar acessos desejáveis ao melhoramento (BURLE e OLIVEIRA, 2010).

Os descritores são características específicas agrupadas em listas para uma cultura particular, aplicados na caracterização e na avaliação de coleções de germoplasma para tornar suas propriedades agronômicas conhecidas (SALOMÃO, 2010).

Para iniciar a caracterização dos acessos que pertencem a um BAG de uma determinada espécie, é necessário inicialmente conferir se existem descritores para a espécie já publicados pelo Bioversity International. O Bioversity International tem publicado listas de descritores de germoplasma para um vasto número de espécies (GOTOR et al., 2011). A mangabeira ainda não possui, porém é possível encontrar trabalhos que caracterizam a espécie com o uso de alguns descritores morfológicos quantitativos (FREITAS et al., 2012; SOARES, 2016; GANGA et al., 2010), com a finalidade de ampliar a caracterização morfológica de mangabeiras.

Avaliando as características morfológicas em uma população natural do Tocantis, Freitas et al. (2012) destacaram a variabilidade existente e o potencial dos frutos em atividades extrativistas e agroindústria. No Cerrado, Ganga et al. (2010) também verificou elevados níveis de variação fenotípica nos frutos de diferentes variedades botânicas de mangabeira.

A caracterização molecular em mangabeiras tem sido realizada com sucesso em indivíduos de população nativas (SILVA et al., 2017; SOARES et al., 2016; AMORIM et al., 2015; COSTA et al., 2015; JIMENEZ et al., 2015; SILVA et al., 2013) e em BAGs (SILVA et al., 2011; COSTA et al., 2011; LUZ, 2016), com o uso de marcadores moleculares.

Os marcadores moleculares podem ser divididos em categorias baseadas no método de detecção do polimorfismo: hibridização, PCR (*Polymerase Chain Reaction*) e sequenciamento (GUPTA et al., 2006). Os genomas eucariotos são povoados por várias classes de sequências simples repetitivas, de um a seis nucleotídeos em *tandem* na sequência de DNA, tais como (CA)_n, (AGAT)_n e (ATT)_n, denominadas microssatélites ou SSR (AKKAYA, BHAGWAT e CREGAN, 1992).

Essas regiões flangeadoras são conservadas entre os indivíduos de uma mesma espécie, permitindo o desenho de pares de marcadores microssatélites específicos contendo de 20 a 30 pares de bases, que são utilizados para amplificar os microssatélites (GUIMARÃES et al., 2009).

Os marcadores SSR são co-dominantes, ou seja, permitem a visualização de ambos os alelos de um indivíduo diplóide heterozigoto, com alto grau de polimorfismo detectável, alta reprodutibilidade das marcas e a possibilidade de detecção de vários microssatélites no mesmo gel, facilitando a operacionalização das análises, principalmente com um número grande de indivíduos (FALEIRO, 2007). São potencialmente úteis e informativos e têm sido utilizados com frequência em estudos de diversidade genética em BAG, auxiliando em programas de conservação, como para acessos de alho *Allium sativum* (CUNHA, 2011), feijão *Phaseolus vulgaris* L. (CHIORATO, 2004), pimenta *Capsicum chinense* Jacq. (ALVARES, 2011), girassol *Helianthus annuus* L. var. macrocarpus (FILIPPI et al., 2015), umbu cajazeira *Spondias* sp. (SANTANA et al., 2011) entre outros.

Em mangabeiras, estudos com marcadores microssatélites são recentes. Os microssatélites para a espécie foram desenvolvidos por Rodrigues (2009). Souza et al. (2010) realizaram a

caracterização genética preliminar de populações naturais de mangabeiras a partir de marcadores microssatélites, com elevado nível de informatividade dos dados obtidos. Costa et al. (2012) aplicaram os mesmos marcadores para analisar a diversidade genética e o padrão espacial da variabilidade genética dentro de uma população natural de mangabeira no Estado de Goiás. Amorim et al. (2015), utilizaram os marcadores para avaliar a diversidade e estrutura genética de populações remanescentes de mangabeira dos Estados do Ceará, Pernambuco e Sergipe. Nogueira et al. (2015) utilizaram marcadores microssatélites de *Catharanthus roseus* para avaliar a variabilidade genética entre variedades botânicas de mangabeira de diferente distribuição geográfica. Collevatti et al. (2016) realizaram estudos de caracterização genética utilizando marcadores microssatélites, entre matrizes adultas e progênes e entre diferentes variedades da coleção de germoplasma de mangabeiras. Os resultados já encontrados revelaram níveis significativos de diversidade genética dentro e entre populações na região de Cerrado e Nordeste do país. Entretanto, há necessidade de obter informações mais aprofundadas sobre a espécie e sua estrutura espacial, com o uso de marcadores moleculares microssatélites de forma mais ampla.

Altos níveis de diversidade genética são importantes e conferem à população a capacidade de responder a doenças, parasitas predadores e alterações ambientais. A variação nas sequências de nucleotídeos pode ocasionar diferentes funções bioquímicas, morfológicas ou comportamentais que causam diferenças nas taxas reprodutivas, de sobrevivência ou no comportamento dos indivíduos. Assim, baixos níveis de variabilidade podem limitar a capacidade de uma espécie para responder as ameaças, tanto em curto quanto em longo prazo. Portanto, existe uma preocupação sobre as consequências da fragmentação do habitat, uma vez que esta pode contribuir para a perda da variabilidade (AMOS e HARWOOD, 1998).

O conhecimento do grau de variabilidade genética, por meio de estudos de diversidade é fundamental no processo de identificação de novas fontes de genes de interesse (AMARAL JUNIOR e THIÉBAUT, 1999), bem como a identificação de acessos duplicados e o intercâmbio de germoplasma entre pesquisadores (KARASAWA et al., 2005). Uma das formas para avaliar essa variabilidade, consiste na caracterização molecular que, a partir de marcas genéticas indiferentes às interferências ambientais, permite inferir sobre o grau de diversidade entre indivíduos e populações. Assim, estes estudos apresentam grande importância, especialmente para espécies nativas ainda pouco estudadas, como a mangabeira, cuja magnitude da diversidade é pouco explorada.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKKAYA, M.S.; BHAGWAT, A.A.; CREGAN, P.B. Length polymorphisms of simple sequence repeat DNA in soybean. **Genetics**, v.132, n.4, p.113-39, 1992.

ALMEIDA, L.M.; FLORIANO, J.F.; RIBEIRO, T.P.; MAGNO, L.N.; MOTA, L.S.L.S.; PEIXOTO, N.; MRUÉ, F.; MELO-REIS P.; LINO JÚNIOR, R.S.; GRAEFF, C.F.O.; GONÇALVES, P.J. *Hancornia speciosa* látex for biomedical applications: physical and chemical properties, biocompatibility assessment and angiogenetic activity. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v.25, n.9, p.2153-2162, 2014.

ALVARES, R.C. **Divergência genética entre acessos de *Capsicum chinense* Jacq. coletados no sudoeste goiano**. 2011. 73 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Goiás, Jataí, 2011.

AMARAL JÚNIOR, A.T.; THIEBAULT, J.T.L. **Análise multivariada na avaliação de diversidade genética em recursos genéticos**. Campos dos Goytacazes. RJ: UENF, 1999. 53 p.

AMORIM, J.A.E.; MATA, L.R.; LEDO, A.S.; AZEVEDO, V.C.R; SILVA, A.V.C. Diversity and genetic structure of mangaba remnants in states of northeastern Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v.14, n. 1, p.823-833, 2015.

AMOS, W.; HARWOOD, J. Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v.353, p.177–186, 1998.

BESPALHOK, J.C.F.; GUERRA, E.P.; OLIVEIRA, R. Uso e conservação do germoplasma. In: BESPALHOK, J.C.F.; GUERRA, E.P.; OLIVEIRA, R. **Melhoramento de Plantas**. Disponível em: <http://www.bespa.agrarias.ufpr.br/conteudo> (2007). Acesso em: 28 de abr. 2015.2007.

BIOVERSITY INTERNATIONAL. **Guidelines for the development of crop descriptor lists**. Bioversity Technical Bulletin Series. Roma: Bioversity International, 2007. 72p.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: Ed. UFV. 2009. 529 p.

BURLE, M.L.; OLIVEIRA, M.S.P. **Manual de curadores de germoplasma – Vegetal: Caracterização morfológica**. – Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2010. 15 p.

CHIORATO, A.F. **Divergência genética em acessos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) do Banco de Germoplasma do Instituto Agrônomo-IAC**. 2004. 85f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Instituto Agrônomo-IAC, Campinas, 2004.

COLLEVATTI, R.G.; OLIVATTI, A.M.; TELLES, M.P.C; CHAVES, L.J. Gene flow among *Hancornia speciosa* (Apocynaceae) varieties and hybrid fitness. **Tree Genetics & Genomes**, v.12, p.74–86, 2016.

COSTA, A.M.; SPEHAR, C.R.; SERENO, J.R.B. **Conservação dos recursos genéticos no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. 268 p.

COSTA, C.F.; COLLEVATTI, R.G.; SOARES, T.N.; CHAVES, L.J.; TELLES, M.P.C. Diversidade e estrutura genética espacial intrapopulacional em indivíduos adultos de *Hancornia speciosa* (Gomes). In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO, 2012, Goiânia. **Anais...** Goiânia: UFG, 2012. p. 10094-10098.

COSTA, D.F.; VIEIRA, F.A.; FAJARDO, C.G.; CHAGAS, K.P.T. Diversidade genética e seleção de iniciadores issr em uma população natural de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.3, p.970-976, 2015.

- COSTA, T.S.; SILVA, A.V.C.; LÉDO, A.S.; SANTOS, A.R.F. Diversidade genética de acessos do banco de germoplasma de mangaba em Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, p.499-508, 2011.
- CRUZ, G.L. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Civilização Brasileira, 1979. 599 p.
- CUNHA, C.P. **Desenvolvimento de marcadores microssatélites e caracterização da diversidade genética molecular de acessos de alho (*Allium sativum* L.)**. 2011. 91 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.
- DARRAULT, R.O.; SCHLINDWEIN, C. Polinização. **A cultura da mangabeira**. In: (SILVA JUNIOR, J.F.; LEDO, A.S., Org.). Aracaju, Embrapa Tabuleiros Costeiros, p. 43-56, 2006.
- DIAS, M.G.L.; MARANHÃO, T.O. Análise citogenética e palinológica quanto à viabilidade e morfologia em mangabeira (*Hancornia speciosa*). **Biociências**, v.1, p.61–69, 1994.
- FALEIRO, F.G. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de uso e conservação dos recursos genéticos**. Planaltina: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Cerrados, 2007. 99 p.
- FAO. Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. 2009. Disponível em: www.faostat.org.br. Acesso em: 01 de agosto de 2015.
- FERREIRA, E.G.; MARINHO, S.J.O. Produção de frutos da mangabeira para consumo *in natura* e industrializado. **Tecnologia e Ciência. Agropecuária**, v.1, p.9-14, 2007.
- FERREIRA, M.B. Frutos comestíveis do Distrito Federal III. Pequi, mangaba, marolo e mamãozinho. **Cerrado**, v.5, p.22-25, 1973.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3.ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220 p.
- FILIPPI, C.V.; AGUIRRE N, RIVAS, J.G. ZUBRZYCKI, J.; PUELA, A.; CORDES, D.; MORENO, M.V.; FUSARI, C.M.; ALVAREZ, D.; HEINZ, R.A.; HOPP, H.P. PANIEGO, N.B.; LIA, V.V. Population structure and genetic diversity characterization of a sunflower association mapping population using SSR and SNP markers. **BMC Plant Biology**. v.15, p.52, 2015.
- FREITAS, M.K.C.; COIMBRA, R.R.; AGUIAR, G.B.; AGUIAR, C.B.N.; CHAGAS, D.B.; FERREIRA, W.M.; OLIVEIRA, R.J. Variabilidade fenotípica e caracterização morfológica de uma população natural de *Hancornia speciosa* Gomes. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.28, p.833-841, 2012.
- GANGA, R.M.D.; FERREIRA, G.A.; CHAVES, L.J.; NAVES, R.V.; NASCIMENTO, J.L. do. Caracterização de frutos e árvores de populações naturais de *Hancornia speciosa* Gomes do Cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, p.101-113, 2010.
- GOTOR, E.; ALERCIA, A.; RAMANATHA R.A.O.V.; WATTS, J.; CARACCIOLO, F. The scientific information activity of Bioversity International: the descriptor lists. Impact Assessment Discussion Paper 3. **Bioversity International**, 2011 16 p.

GUIMARÃES, C.T.; MAGALHÃES, J.V.; LANZA, M.A.; SCHUSTER, I. Marcadores moleculares e suas aplicações no melhoramento genético. **Informe Agropecuário**, v.30, n.253, p.24-33, 2009.

GUPTA, V.K.; VERMA, D.K.; SINGH, K.; KUMANI, R.; SINGH, S.V.; VIHAM, V.S. Single-step PCR for detection of *Brucella melitensis* from tissue and blood of goats. **Small Rumin Res.**, v.66, p.169–174, 2006.

HAWKES, J.G. Germplasm collection, preservation, and use. In: FREY, K. J., ed. **Plant Breeding II**. Ludhiana: Kalia Publishers, p.57-83, 1982.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção do fruto da Mangaba**. 2014. Disponível em: www.ibge.gov.br. Acessado em: 20 de mai. de 2015.

JIMENEZ, H. J.; MONTARROYOS, A. V. V. MARTINS, L. S. S. MORAES FILHO, R. M. Genetic diversity of the Neotropical tree *Hancornia speciosa* Gomes in natural populations in Northeastern Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v.14, p.17749-17757, 2015.

KARASAWA, M.; RODRIGUES, R.; SUDRÉ, C.P.; SILVA, M.P.; RIVA, E.M.; AMARAL JÚNIOR, A.T. Aplicação de métodos de agrupamento na quantificação da divergência genética entre acessos de tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v.23, n.4, p.1000-1005, 2005.

LEDERMAN, I.E.; BEZERRA, J.E.F. Situação atual e perspectivas da cultura da mangaba no Brasil. In: **Simpósio Brasileiro sobre a cultura da mangaba**, 2003, Aracaju. **Anais...** Aracaju, 2003.

LEDERMAN, I.E.; SILVA JÚNIOR, J.F. da; BEZERRA, J.E.F.; ESPÍNDOLA, A.C. de MELO. Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes). In: LEDERMAN, I.E. **Série Frutas Nativas**. Jaboticabal: Funep, 2000. 35p.

LIMA, I.L.P.; SCARIOT, A. **Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável da Mangaba**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. 68p.

LIMA, J.P.; AZEVEDO, L; SOUZA, N.J; NUNES, E.E. VILAS BOAS, E.V.B. First evaluation of the antimutagenic effect of mangaba fruit in vivo and its phenolic profile identification. **Food Research International**, v.75, p.216–224, 2015.

LUZ, G.A. **Diversidade genética em acessos de mangaba do banco de germoplasma da Embrapa Meio-Norte**. 2016. 56f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2016.

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

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

MORALES, R.G.F.; RESENDE, J.T.V.; FARIA, M.V.; SILVA, P.R.; FIGUEIREDO, A.S.T.; CARMINATTI, R. Divergência genética em cultivares de morangueiro, baseada em caracteres morfoagronômicos. **Revista Ceres**, v.58, n.3, p.323-329, 2011.

MOTA, D.M.; SCHMITZ, H.; SILVA JÚNIOR, J.F.; JESUS, N.B.; OLIVEIRA, P.E.O.; RODRIGUES, R.F.A.; SANTOS, R.V.; CURADO, F.F. **As catadoras de mangaba: problemas e reivindicações**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2007. 71 p.

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

NASCIMENTO, R.S.M.; CARDOSO, J.A.; COCOZZA, F.D.M. Physical and physicochemical characterization of ‘mangabeira’ fruits (*Hancornia speciosa* Gomes) in Western Bahia. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.18, n.8, p.856-860, 2014.

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

NOGUEIRA, C.A.; STAFUZZA, N.B.; RIBEIRO, T.P.; PRADO, A.D.L.; MENEZES, I.P.P.; PEIXOTO, N.; GONÇALVES, P.J.; ALMEIDA, L.M. Intraspecific differentiation of *Hancornia speciosa* revealed by simple sequence repeat and random amplified polymorphic DNA markers. **Genetics and Molecular Research**, v.14, p.15996-16005, 2015.

OLIVEIRA, M.S.P. **Caracterização molecular e morfo-agronômica de germoplasma de açazeiro**. 2005. 171 f. Tese (Doutorado em genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, UFLA, 2005.

OLIVEIRA, R.; MARTINS, C.F.; ZANELLA, F.; DUARTE JUNIOR, J.A.; SCHLINDWEIN, C. **Insetos produzem mangabas**. Rio de Janeiro: Funbio, 2014, p.24.

PINHAL, H.F. et al. Aplicações da cultura de tecidos de tecidos em fruteiras do Cerrado. **Ciência Rural**, v.41, p.1136-1142, 2011.

PLÁCIDO, G.R.; SILVA, R.M.; CAGNIN, C.; SILVA, M.A.P.; CALIARI, M. Physical and physicochemical composition of mangaba fruits (*Hancornia speciosa* Gomes) at three maturity stages. **African Journal of Agricultural Research**, v.11, p. 1772–1776, 2016.

POTT, A; POTT, V.J. **Plantas do Pantanal**. EMBRAPA, 41. Planaltina, D.F., Brazil, 1994.

QUEIRÓZ, M.A. **Os recursos genéticos vegetais e os melhoristas de plantas**. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999.

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**, v.20, n.3, p.205-217, 2008.

RODRIGUES, A.J.L. **Desenvolvimento de marcadores microssatélites e estrutura genética de *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae)**. 2009. 106f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA CALIXTO, F.; BRITO, E.S.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-tradicional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, p.996-1002, 2010.

SALOMÃO, A.N. **Manual de curadores de germoplasma - vegetal: glossário. (Documentos/ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 326)**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. 14p.

SANTANA, I.B.B.; OLIVEIRA, E.J.; FILHO, W.S.S.; RITZINGER, R.; AMORIM, E.P. COSTA, M.A.P.C.; MOREIRA, R.F.C. Variabilidade genética entre acessos de Umbu-Cajazeira mediante análise de marcadores ISSR. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.3, p.868-876, 2011.

SILVA, A.V.C.; AMORIM, J.A.E.; MELO, M.F.V.; LEDO, A.S.; RABBANI, A.R.C. Genetic Diversity of Remaining Populations of Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) in Restingas of Brazil. **Journal of Agricultural Science**, v.9, p.46, 2017.

SILVA, A.V.C.; RABBANI, A.R.C.; SENA-FILHO, J.G. ALMEIDA, C.S. Genetic diversity analysis of mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes), an exotic Brazilian tropical species. **Tropical Subtropical Agroecosystem**, v.15, p.217-225, 2012.

SILVA, A.V.C.; SANTOS, A.R.F.; WICKERT, E.; SILVA JUNIOR, J.F.; COSTA, T.S. Divergência genética entre acessos de mangabeira. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.6, p.572-578, 2011.

SILVA, A.V.C.; SILVA JUNIOR, J.F.; MOURA, C.F.H.; LEDO, A.S.; MENEZES, D.N.B; VITÓRIA, M.F.; AMORIM, J.A. E. 2015. **Atributos de Qualidade de Funcionais de Acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros (informação técnica), 2015.

SILVA, G.C; BRAGA, F.C.; LEMOS, V.S; CORTES, S.F. Potent antihypertensive effect of *Hancornia speciosa* leaves extract. **Phytomedicine**, v.23, p.214-219, 2016.

SILVA JUNIOR, J.F. A cultura da mangaba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, p.1-192, 2004.

SILVA JUNIOR, J.F.; LEDO, A.S. (Org.). **A cultura da Mangaba**. 1. ed. Aracaju:Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006. v.1. 253p.

SILVA JÚNIOR, J. F. MOTA, D. M.; GOMES, J. B. V. Representações de uma população tradicional de catadores acerca do extrativismo da mangaba no litoral sul de Sergipe. In: Simpósio Brasileiro sobre a Cultura da Mangaba, 2003, Aracaju. **Anais...** Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. CD-ROM.

SILVA, S.A.; CRUZ, E.M.O.; REIS, R.V.; FERREIRA, C.F.; PASSOS, A.R. Caracterização morfológica e Molecular de genótipos de Mangaba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.35, p.1093-1100, 2013.

SOARES, A.N.R., VITÓRIA, M.F., NASCIMENTO, A.L.S., LÉDO, A.S., RABBANI, A.R. C. AND SILVA, A.V.C. Genetic diversity in natural populations of mangaba in Sergipe, the largest producer State in Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v.15, p.1-12, 2016.

SOARES, F.P.; PAIVA, R.; CRAVO, N.R.; OLIVEIRA, L.M., SILVA, D.R.G.; PAIVA, P.D.O. Cultura da mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes). **Boletim Agropecuário**, 67, p.1-12, 2006.

SOARES, F.S. **Diversidade genética e propagação vegetativa de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes)**. 2016. 101f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade do Estado de Mato Grosso, Mato Grosso. 2016.

SOUZA, I.P.; ARAUJO, R.B.; RODRIGUES, A.J.L. Estudo da Estrutura Genética de Populações Naturais de *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae), a Partir de Diferentes Parâmetros Biométricos. **Anais** do VIII Seminário de Iniciação Científica; V Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação da UEG, Goiânia. Disponível em: [http://www.prp.ueg.br/sic2010/apresentacao/trabalhos/pdf/biologicas/seminario/estudo_da_estrutura_genetica.pdf]. 2010.

4. ARTIGO 1: DESCRITORES MORFOLÓGICOS E FÍSICO-QUÍMICOS PARA CARACTERIZAÇÃO DE GERMOPLASMA DE MANGABEIRA

Periódico submetido (ou a ser submetido): PAB

Marina Ferreira da Vitória¹, Ana Letícia Sirqueira Nascimento¹, Lúcio Flávio Mota Macedo², Ana da Silva Ledo³ e Ana Veruska Cruz da Silva³

(1) Universidade Federal de Sergipe, Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Biodiversidade, Cidade Universitária Prof. José Aloísio de Campos, Avenida Marechal Rondon, s/n, Jardim Rosa Elze, CEP 49100-000 São Cristóvão, Sergipe. E-mail: marina_fv@hotmail.com, analeticia_16@hotmail.com (2) Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Programa de Genética e Melhoramento Animal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo. E-mail: flaviommota.zoo@gmail.com (3) Embrapa Tabuleiros Costeiros, Avenida Beira Mar, no 3.250, CEP 49025-040 Aracaju, Sergipe. E-mail: ana.ledo@embrapa.br, ana.veruska@embrapa.br

RESUMO -

O objetivo deste trabalho foi avaliar descritores morfológicos e físico-químicos em germoplasma de mangaba. Foram usados 21 descritores em 54 plantas oriundas de 10 acessos em fase de frutificação (CA, AB, PT, PR, TC, PA, LG, BI, IP e AD) do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Tabuleiros Costeiros, localizado no Campo Experimental de Itaporanga d’Ajuda/ SE, fiel depositário da espécie. A diversidade foi verificada entre e dentro dos acessos, entretanto, sem relação direta com suas origens. Houve diferença significativa para a maioria dos descritores. Os acessos BI e TC apresentaram frutos mais pesados, característica de interesse para o processamento agroindustrial. Para os descritores físico-químicos os acessos AD, IP e AB se destacaram no teor de vitamina C e SS; ATT e pH e relação SS/ATT, respectivamente. Os resultados são importantes para as ações de conservação da espécie e em futuros programas de melhoramento genético.

Termo para indexação: *H. speciosa* Gomes, morfologia, variabilidade, pós-colheita.

ABSTRACT –

The aim of this work was to evaluate morphological and physico-chemical 21 descriptors in germplasm of mangaba. 21 descriptors were used in 54 plants from 10 access in fruiting stage (CA, AB, PT, PR, CT, PA, LG, BI, IP and AD) Active Bank Germplasm of Embrapa Coastal Tablelands (BGMangaba), located in the Experimental Field of Itaporanga d'ajuda/SE, faithful depositary of the species. The diversity was observed between and within accessions, however, no direct relationship with its origins. There was significant differences for most descriptors. Access BI and TC presented heavier fruits, a characteristic of interest for industrial processing. Physico-chemical descriptors to access AD, IP and AB stood out in the content of vitamin C and SS; Att and pH and SS/ATT, respectively. The results are of importance for the conservation of the species and future breeding programs.

Index terms: *H. speciosa* Gomes, morphology, variability, post-harvest.

4.1. Introdução

Frutífera nativa do Brasil, a mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), da família Apocynaceae, distribui-se desde as regiões dos Tabuleiros Costeiros e Baixada Litorânea do Nordeste aos Cerrados das regiões Centro-Oeste, Norte e Sudeste (Soares et al., 2006). Há uma diminuição nas áreas de ocorrência natural da espécie, principalmente devido à exploração imobiliária no litoral nordestino, ao desmatamento e exploração extrativista não sustentável, sendo imprescindíveis estratégias de conservação da espécie. Os frutos podem ser consumidos *in natura*, mas a maior parte da produção é processada e utilizada para produção de polpa congelada, sucos, coquetéis, doces em calda, geleias, sorvetes e licores. Pesquisas revelaram o potencial valor nutritivo, com teor proteico superior ao da maioria das espécies frutíferas utilizadas comercialmente (Nascimento et al., 2014), além de ser fonte de vitaminas (A, B1, B2 e C), ferro, fósforo e cálcio (Soares et al., 2007).

Com o propósito de minimizar os efeitos da erosão genética de espécies nativas, diversos centros de pesquisa se dedicam a desenvolver estratégias para a conservação dos germoplasmas (Nabout et al., 2016). A implementação de Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) é uma estratégia de conservação bastante utilizada e se baseia na conservação das espécies em campo, fora do lugar de origem (Costa et al., 2011). Nestes locais, tanto a variabilidade genética da espécie é conservada, como pode ser ampliada, com a introdução constante de novos acessos e/ou cultivares, oriundos de áreas de ocorrência ou de programas de melhoramento (Brondani et al., 2006).

A Embrapa Tabuleiros Costeiros é fiel depositária da espécie, através do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba (BGMangaba), implantado em 2006. Atualmente constam 22 acessos, propagados por sementes de polinização aberta, procedentes dos Estados da Bahia, Paraíba, Sergipe, Pernambuco, Alagoas, Ceará, Pará e Minas Gerais.

Conhecer a variabilidade do germoplasma existente, é fundamental. Para isso os acessos precisam ser caracterizados por meio de listas de descritores botânicos, morfológicos e agrônômicos (Gotor et al., 2011). Em plantas perenes, a caracterização morfoagronômica executa uma função preponderante para eliminar duplicatas, reduzir custos de manutenção e identificar acessos desejáveis ao melhoramento (Burle & Oliveira, 2010)

Apesar de ainda não ter manual de descritores mínimos para mangabeira publicado, é possível encontrar trabalhos que caracterizam a espécie com o uso de alguns descritores morfológicos e físico-químicos (Ganga et al., 2010; Nascimento et al., 2014; Freitas et al., 2012). O Bioversity Internacional, órgão ligado a FAO (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura) tem contribuído para elaboração de descritores de várias espécies, com terminologia padronizada para possível aplicação em diferentes locais (Burle & Oliveira, 2010). O butiazeiro é exemplo de uma frutífera nativa do Brasil que teve seus descritores publicados pelo Bioversity, em 2015.

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar 21 descritores morfológicos e físico-químicos em 54 plantas representantes de 10 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros (BGMangaba).

4.2. Material e Métodos

O Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Tabuleiros Costeiros encontra-se localizado no Campo Experimental de Itaporanga d'Ajuda (11°06'40"S e 37°11'15"W). Foram avaliadas 54 plantas oriundas de 10 acessos que encontravam-se em fase de frutificação, no período de janeiro a abril de 2016 (Tabela 1; Figura 1).

Tabela 1. Origem e número de acessos do BGMangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros em fase de frutificação utilizados para avaliação dos descritores morfológicos e físico-químicos. Itaporanga d'Ajuda, SE.

Procedência	Acesso/Código	N	Latitude	Longitude
Jandaíra, BA	Costa Azul - CA	5	11°33'43"S	37°40'52"W
Conde, BA	Barra de Itariri – BI	6	11°48'34"S	37°40'52"W
Mata de São João, BA	Lagoa Grande – LG	6	12°31'52"S	38°18'4"W
Indiaroba, SE	Terra Caída – TC	6	11°31'10"S	37°30'47"W
Indiaroba, SE	Preguiça – PR	6	11° 30'43"S	37°27'11"W
Indiaroba, SE	Pontal – PT	6	11°28'24"S	37°24'16"W
Salvaterra, PA	Água Boa – AB	6	0°45'22"S	48°30'55"W
Conde, PB	Ipiranguinha – IP	5	7°15'37"S	34°54'43"W
Alhandra, PB	Mata Redonda – AD	4	7°20'38"S	34°56'7"W
João Pessoa, PB	Paratibe – PA	4	7° 12'25"S	34° 49' 6"W

N= número de indivíduos



Figura 1. Procedência dos acessos do BGMangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros, utilizados para avaliação dos descritores morfológicos e físico-químicos.

Os acessos foram caracterizados utilizando descritores morfológicos (Tabela 2) e físico-químicos (Tabela 3). Os descritores selecionados foram baseados em listas de descritores de espécies taxonomicamente próximas, que fazem parte do mesmo gênero e família como recomendado por Burle & Oliveria (2010).

Tabela 2. Descritores morfológicos quantitativos para avaliação em germoplasma de mangabeira

Descritor	Sigla	Forma de avaliação	Método de avaliação
Altura da planta	H	Em metros, do solo até a ponta da folha mais alta	Clinômetro digital
Inserção da copa	IC	Em metros, do solo até o começo da copa	Fita métrica
Comprimento da copa	L	Em metros, médias N-S e L-O	H-IC
Diâmetro da copa	DC	Em metros, L/2	Trena
Diâmetro do caule	DAC	Em centímetros, medido à 30 cm do solo	Fita métrica
Comprimento da lâmina foliar	CFO	Em centímetros, da base até a ponta da folha	Régua graduada
Largura da lâmina foliar	LFO	Em centímetros, de um lado a outro da folha	Régua graduada
Comprimento do pecíolo	CPE	Em centímetros	Régua graduada
Diâmetro do fruto	DFO	Em centímetros, de um lado a outro do fruto	Paquímetro digital
Comprimento do fruto	CFO	Em gramas, da base até a ponta o fruto	Paquímetro digital
Massa do fruto	MRF	Em gramas	Balança de precisão
Número total de sementes	NS	Unidade	Contagem manual
Massa da semente	MSE	Em gramas	Balança de precisão
Massa total das sementes	PTS	Em gramas, por fruto	Balança de precisão
Comprimento da semente	CSE	Em milímetros	Paquímetro digital
Diâmetro da semente	DSE	Em milímetros	Paquímetro digital

Tabela 3. Descritores de qualidade do fruto em germoplasma de mangabeira.

Descritor	Sigla	Unidade
Sólidos Solúveis	SS	°Brix
Acidez Total Titulável	ATT	% Ácido Cítrico
Potencial Hidrogênio Iônico	pH	
Relação SS/ATT	SS/ATT	Quociente entre as duas variáveis
Vitamina C	VitC	mg x 100 ⁻¹ g

Para realização da caracterização físico-química avaliou-se: a) Teor de sólidos solúveis (SS), utilizando refratômetro digital, modelo PAL-1 (Atago Co, Tokyo, Japão), conforme normas de AOAC (1992), expressos em °Brix; b) Acidez total titulável (ATT): determinada por titulação, com solução de NaOH 0,1N e fenolftaleína a 1% como iniciador, com valores expressos em porcentagem de ácido cítrico; c) Potencial hidrogênio iônico (pH) da polpa: com leituras utilizando potenciômetro eletrônico, na solução contendo 5 g de polpa diluída em 50 ml de água destilada; d) Relação SS/ATT: obtida pela divisão entre os dois parâmetros; e) Vitamina C: determinada por titulação com DCBIB (Diclorofenolendofenol) e os valores expressos em mg.100⁻¹ g de matéria fresca.

Para compor a amostra foram utilizadas 12 folhas adultas, 12 frutos maduros e 12 sementes por fruto de cada indivíduo. Os frutos foram colhidos na fase de maturação fisiológica, com base na cor da casca, caracterizada pela presença da pigmentação vermelha em quase todo a área. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 10 tratamentos (acessos) e repetições variando de 4 a 6 plantas, em função do número de indivíduos por acesso (Tabela 1).

A caracterização morfológica quantitativa foi analisada pelo teste de Scott-Knott (Scott e Knott, 1974) a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2011).

Para a análise de agrupamento entre acessos usou-se a função hclust (R Development Core Team, 2015) e factoextra (Kassambara e Mundt, 2005), por meio da análise de coordenadas principais. A análise por coordenadas principais também foi utilizada para análise fatorial múltipla entre os descritores quantitativos e a variação total de todos os acessos. A fim de visualizar as relações entre os descritores quantitativos, foi estimada a matriz de coeficientes de correlação de Pearson, obtida com base na distância euclidiana padronizada pelo método UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages), com o auxílio do programa R (R Development Core Team, 2015).

4.3. Resultados e Discussão

Houve diferença significativa para a maioria dos descritores quantitativos, indicando a variabilidade morfológica entre os acessos (Tabela 4). A amplitude do coeficiente de variação (CV) foi de 4,34 % a 61,29 % para os descritores potencial hidrogênio iônico (pH) e inserção da copa (IC),

respectivamente. Os valores do CV podem ser considerados médios, quando comparados com outros trabalhos similares com a espécie (Freitas et al., 2012; Souza et al., 2007).

Os acessos AB, BI, CA e LG apresentaram maior altura (H) – 4,90; 4,90; 5,70 e 4,95 m, respectivamente (Tabela 4). Os valores foram semelhantes aos relatados por Ganga et al. (2010), em mangabeiras no Cerrado – 4,58 m. Para o comprimento de copa (L), as maiores médias foram obtidas nos acessos CA (4,77 m), LG (4,52 m), BI (4,47 m) e AB (4,40 m). A média da inserção da copa (IC) foi de 0,49 m e não houve diferença significativa. Em Tocantis, Freitas et al. (2012), obtiveram IC de 0,41m. Esse descritor é importante para a construção de modelos de crescimento, após análises periódicas (Zimmermann et al., 2016). O diâmetro do caule (DAC) apresentou as maiores médias nos acessos PT (5,63), AB (5,11 cm), CA (4,99 cm), BI (4,83 cm), TC (4,67 cm) e PR (4,49 cm). Esses resultados foram superiores aos relatados por Ganga et al. (2010) e Silva et al. (2012).

Não foi observado polimorfismo foliar nos acessos estudados. Não houve diferença significativa para o comprimento e largura da folha, e essas duas características são correlacionadas, ou seja, folhas mais estreitas foram também as de menor comprimento (Tabela 4; Figura 2). Os valores médios observados (4,69 cm e 1,87 cm, respectivamente) foram semelhantes aos relatados por Fonseca & Condé (1994). Quanto ao pecíolo, apesar de ser um critério de diferenciação de variedades botânicas (Monachino, 1945), como no presente trabalho só existiam *H.speciosa* Gomes, não houve variação. A massa média do fruto (MFR) foi de 19,20g, destacando-se significativamente os acessos BI (25,49g) e TC (23,61g). Estes valores foram superiores aos 20,97 g obtidos por Freitas et al. (2012), em populações nativas de mangabeiras de Porto Nacional, Tocantins.

Os frutos dos acessos TC, BI e CA apresentaram os maiores diâmetros (34,77; 34,14 e 31,76 mm, respectivamente). Para o comprimento do fruto (CFR), não houve diferença significativa, e a média foi de 35,89 mm. Em municípios do oeste da Bahia, Nascimento et al. (2014) obtiveram frutos com 32,34 mm de diâmetro e 31,87 mm de comprimento. No jardim clonal da Emepa (Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba), Souza et al. (2007) relataram valores médios de 38,27 e 34,66 mm para o comprimento e diâmetro dos frutos, respectivamente. Para a agroindústria e consumidores, frutos mais pesados e de maior tamanho são atrativos e influenciam na escolha (Chitarra & Chitarra, 2005). Os frutos dos acessos TC, BI, PT, LG, CA e IP apresentaram maior número e massa de sementes, com média de 8,9 e 1,01 g, respectivamente (Tabela 4).

Frutos dos acessos LG, CA, BI, TC e PR apresentaram maior acidez total titulável (ATT) – 1,36; 1,32; 1,19 e 1,19% de ácido cítrico, respectivamente (Tabela 4). Esses valores foram semelhantes aos de Silva et al. (2013) e Souza et al. (2007), e podem ser classificados como acidez moderada e bem aceira para o consumo *in natura* (Sacramento et al., 2007). O conteúdo médio de vitamina C foi de 394,45 mg/100g e não houve variação significativa. As médias obtidas foram superiores aos 188,33 mg 100g⁻¹ relatados por Plácido et al. (2016) e semelhantes aos de Silva et al.

(2012). Esses resultados sugerem que a mangaba seja uma rica fonte de vitamina C, quando comparada com outras frutas cítricas como: goiaba, manga, mamão (Sogi et al., 2012; Oliveira et al., 2010), além de ressaltar que a vitamina C é sempre um importante atributo de qualidade a ser considerado.

Os acessos IP, TC, AD, PA e AB apresentam frutos com pH superiores, com valores entre 3,48 e 3,52 (Tabela 4), resultados semelhantes aos de Carnelossi et al. (2004) e inferiores aos 3,93 de Nascimento et al. (2014). Frutos com pH menor que 4,5 são classificados como muito ácidos (Azeredo et al., 2004). O pH é um atributo de qualidade importante do fruto e pode influenciar no tempo de deterioração, através do desenvolvimento de microrganismos, na atividade enzimática, na verificação do estágio de maturação de frutas, escolha da embalagem, na escolha do equipamento com o qual se vai trabalhar na indústria e na escolha de aditivos e conservantes, por exemplo (Lima et al., 2013).

O valor médio para o teor de sólidos solúveis (SS) foi 12,41°Brix, sendo que apenas o acesso CA diferiu dos demais, com a menor média – 7,58°Brix (Tabela 4). Os resultados encontrados são inferiores aos observados por Perfeito et al. (2015), em Goiás e por Nascimento et al. (2014), no oeste baiano - 17,57 e 17,04°Brix, respectivamente. Os açúcares solúveis presentes nos frutos são responsáveis pela doçura e sabor e podem ser influenciados por condições climáticas.

A melhor relação SST/ATT foi observada nos frutos dos acessos AB, PT e AD – 18,8; 15,61 e 14,18, respectivamente (Tabela 4). Os resultados encontrados foram superiores a Souza et al. (2007) – 9,85 - e menores do que os de Nascimento et al. (2014) - 18,62. Essa relação é uma das melhores formas de avaliação do sabor, sendo mais representativa que a medição isolada de açúcares e de acidez. A preferência para o consumidor é expressa por uma maior relação, verificada por elevados teores de sólidos solúveis e baixa acidez (Santos et al., 2010). Os frutos dos acessos do BGMangaba avaliados apresentaram alta relação SS/ATT, que indica o potencial e a qualidade da polpa para uso o processamento e uso na fabricação de polpa congelada, doces, sorvetes e geléias, por exemplo.

Tabela 4. Características morfológicas quantitativas e físico-químicas de acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros.

Descritor	Acesso										CV (%)	Média
	AB	AD	BI	CA	IP	LG	PA	PR	PT	TC		
H (m)	4,900 ^a	3,525 ^b	4,900 ^a	5,175 ^a	4,240 ^b	4,950 ^a	3,900 ^b	4,883 ^b	4,450 ^b	4,816 ^b	15,06	4,62
IC (m)	0,491 ^a	0,547 ^a	0,421 ^a	0,400 ^a	0,476 ^a	0,425 ^a	0,695 ^a	0,620 ^a	0,275 ^a	0,685 ^a	61,29	0,49
L (m)	4,408 ^a	2,977 ^b	4,478 ^a	4,775 ^a	3,764 ^b	4,525 ^a	3,205 ^b	4,263 ^b	4,175 ^b	4,131 ^b	17,78	4,12
DC (m)	5,058 ^a	4,112 ^b	4,775 ^a	5,090 ^a	3,890 ^b	5,275 ^a	3,837 ^b	4,616 ^b	5,341 ^a	5,316 ^a	18,87	4,79
DAC (cm)	5,113 ^a	3,587 ^b	4,838 ^a	4,990 ^a	3,214 ^b	4,623 ^b	3,445 ^b	4,496 ^a	5,631 ^a	4,670 ^a	22,54	4,53
CFO (cm)	5,205 ^a	4,462 ^a	4,811 ^a	4,526 ^a	4,688 ^a	4,658 ^a	4,165 ^a	4,781 ^a	4,621 ^a	4,746 ^a	7,77	4,69
LFO (cm)	1,955 ^a	1,867 ^a	1,826 ^a	1,770 ^a	1,756 ^a	1,970 ^a	1,660 ^a	2,053 ^a	1,845 ^a	1,930 ^a	10,37	1,87
CPE (cm)	0,803 ^a	1,002 ^a	0,776 ^a	0,768 ^a	0,826 ^a	0,675 ^a	0,822 ^a	0,791 ^a	0,851 ^a	0,696 ^a	15,88	0,79
MFR (g)	16,708 ^b	17,950 ^b	25,498 ^a	19,654 ^b	17,858 ^b	19,058 ^b	11,852 ^b	19,538 ^b	17,286 ^b	23,615 ^a	26,69	19,203
CFR (mm)	38,695 ^a	36,032 ^a	35,370 ^a	35,086 ^a	35,514 ^a	34,228 ^a	33,527 ^a	36,423 ^a	36,723 ^a	36,368 ^a	8,77	35,89
DFR (mm)	28,880 ^b	27,980 ^b	34,140 ^a	31,762 ^a	29,454 ^b	31,228 ^b	27,437 ^b	30,951 ^b	29,695 ^b	34,773 ^a	9,35	30,847
NS (unid)	5,50 ^b	7,00 ^b	11,33 ^a	9,4 ^a	8,80 ^a	10,00 ^a	5,50 ^b	7,83 ^b	10,33 ^a	12,00 ^a	40,31	8,94
MSE (g)	0,421 ^b	0,687 ^b	1,606 ^a	1,246 ^a	0,968 ^b	1,115 ^a	0,470 ^b	1,102 ^a	1,106 ^a	1,168 ^a	51,58	1,01
MTS (g)	7,833 ^a	8,040 ^a	8,778 ^a	8,906 ^a	8,430 ^a	8,260 ^a	8,492 ^a	8,746 ^a	7,556 ^a	6,553 ^a	15,29	8,13
CSE (mm)	6,323 ^a	6,855 ^a	6,653 ^a	6,776 ^a	6,882 ^a	6,415 ^a	6,406 ^a	6,516 ^a	6,253 ^a	6,358 ^a	7,77	6,53
DSE(mm)	2,698 ^a	2,785 ^a	3,105 ^a	2,860 ^a	2,784 ^a	2,681 ^a	2,460 ^a	2,596 ^a	2,621 ^a	2,768 ^a	13,51	2,74
ATT	0,893 ^b	0,906 ^b	1,198 ^a	1,326 ^a	1,111 ^b	1,365 ^a	1,102 ^b	1,171 ^a	0,905 ^b	1,190 ^a	26,72	1,15
VitC (mg/100g)	378,065 ^a	395,806 ^a	421,822 ^a	409,022 ^a	382,298 ^a	391,345 ^a	382,996 ^a	400,086 ^a	364,195 ^a	371,150 ^a	13,66	394,45
pH	3,480 ^a	3,510 ^a	3,370 ^b	3,366 ^b	3,528 ^a	3,307 ^b	3,488 ^a	3,394 ^b	3,380 ^b	3,518 ^a	4,34	3,41
SS (°brix)	13,491 ^a	12,833 ^a	13,333 ^a	7,58 ^b	14,250 ^a	12,638 ^a	13,300 ^a	12,050 ^a	13,373 ^a	12,916 ^a	20,30	12,41
SS/ATT	18,809 ^a	14,180 ^a	12,093 ^b	7,893 ^b	12,815 ^b	9,643 ^b	12,288 ^b	10,790 ^b	15,601 ^a	12,088 ^b	41,23	12,23

⁽¹⁾H, altura da planta; IC, inserção da copa; L, comprimento da copa; DC, diâmetro da copa; DAC, diâmetro do caule; CFO, comprimento da folha; LFO, largura da folha; CPE, comprimento do pecíolo; MFR, massa do fruto; CFR, comprimento do fruto; DFR, diâmetro do Fruto; NS, número total de sementes; MSE, massa da semente; MTS, massa total das sementes; CS, comprimento da semente; DS, Diâmetro da semente; ATT, acidez total titulável; VitC, vitamina C; pH, potencial Hidrogeniônico; SS, teor de sólidos solúveis; SS/ATT, quociente entre as variáveis SS e ATT. ⁽²⁾AB, Água Boa; AD, Mata Redonda; BI, Barra de Itariri; CA, Costa Azul; IP, Ipiranguinha; LG, Lagoa Grande; PA, Paratibe; PR, Preguiça; PT, Pontal; TC, Terra Caída.

*Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem estatisticamente, entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade

O Padrão de Identidade de Qualidade (PIC) exige que a polpa de mangaba apresente 8°Brix; pH 2,80 e ATT expressa em ácido cítrico de 0,7 a 100 g de polpa⁻¹ (Brasil, 2000). Dessa forma, todos os acessos do BGMangaba avaliados encontram-se dentro do padrão de qualidade requerido pela legislação brasileira.

Os dados obtidos compuseram um estudo das correlações existentes entre os descritores quantitativos avaliados (Figura 2). Percebeu-se que ao analisar a maior semelhança e variância entre os grupos de variáveis, o coeficiente de correlação entre os descritores, foi alto e positivo entre altura da planta (H) e comprimento da copa (L). A altura da planta (H) também correlacionou positivamente com o diâmetro da copa (DC) e diâmetro do caule (DAC). Assim, a correlação existente entre esses descritores, indica que a seleção de plantas mais altas implica em plantas com diâmetro do caule e copa maiores e vice-versa. Ganga et al. (2010), constatarem correlação positiva e significativas entre a altura da planta e o diâmetro do caule (0,76) em populações naturais do Cerrado. Silva Júnior et al. (2003), detectaram uma correlação alta e significativa (0,97) entre altura da planta e circunferência do caule de mangabeiras adultas oriundas de uma população nativa do nordeste.

Ao analisarmos os parâmetros biométricos de frutos da mangabeiras, as correlações demonstraram que entre o diâmetro do fruto (DFR) e os descritores comprimento do fruto (CFR), massa das sementes (MSE) e número de sementes (NS), há correlação alta e positiva (Figura 2). Chitarra & Chitarra (2005) relatam que a relação entre o diâmetro e comprimento do fruto determina sua forma. A correlação entre as variáveis sugere uniformidade nas dimensões do frutos entre os indivíduos.

A massa do fruto (MFR) correlacionou-se com o comprimento do fruto (CFR), diâmetro do fruto (DFR), massa da semente (MSE), diâmetro da semente (DSE) e número de sementes (NSE) (Figura 2). Assim, frutos mais pesados dependem de maior número de sementes (NSE), que de acordo com Ganga et al. (2010) pode estar diretamente relacionado a polinização eficiente. Esses resultados corroboram com as correlações obtidas por Nascimento et al. (2014), que detectaram correlação significativa entre o diâmetro do fruto e o número de sementes (0,686), entre a massa do fruto e diâmetro do fruto (0,963), massa do fruto e comprimento do fruto (0,959). Gonçalves et al. (2013), constatarem correlação positiva (0,353) entre a massa do fruto e a massa das sementes ao analisarem parâmetros biométricos de mangabas em vegetação natural no Estado do Mato Grosso. Essas características representam grande importância para a exploração comercial, principalmente no processamento de frutos, indicando a seleção de acessos com frutos de maior massa e diâmetros. A correlação positiva entre as variáveis físicas dos frutos indicam que as duas características são favorecidas pelas mesmas causas de variação. Dessa forma, esperam-se ganhos positivos na seleção de mangabeiras as quais apresentaram alta correlação com a massa do fruto (MFR).

A massa total das sementes por fruto (MTS) correlacionou positivamente com a massa de uma semente (MSE) e comprimento da semente (CSE), bem como o diâmetro da semente (DSE) correlacionou positivamente com o comprimento da semente (CSE) (Figura 2). Fator positivo, uma vez que o conhecimento da variação entre frutos e sementes é importante para o melhoramento e formação de bancos de germoplasma, visando seu aumento ou uniformidade, podendo ser usado no desenvolvimento de cultivares que propiciem frutos com características importantes para melhorar a sua comercialização (Gonçalves et al., 2013).

De acordo com as estimativas de correlações obtidas, os valores da caracterização físico-química como vitamina C (VitC), potencial hidrogeniônico (pH) e sólidos solúveis (SS) foram negativos e significativos ($P < 0,05$) para os valores da caracterização morfológica altura da planta (H), comprimento da copa (L), diâmetro da copa (DC) e diâmetro do caule (DAC), indicando que o aumento nas características físico-químicas é inversamente proporcional as características morfológicas (Figura 2). A correlação negativa também foi obtida entre os valores de SS/ATT e acidez total titulável (ATT), a medida que aumenta o valor da acidez, diminui o valor da relação SS/ATT, e correlação positiva entre SS/ATT e sólidos solúveis (SS), isso ocorre devido a acidez total titulável (ATT) ser utilizada na relação com os sólidos solúveis. Giles et al. (2016), avaliando a correlação entre características físicas, químicas e físico-químicas de frutos de ciriguela, também observaram correlação negativa (-0,87) entre acidez total titulável (ATT) e a relação SS/ATT e positiva entre o teor de sólidos solúveis (SS) (0,18). O pH apresentou correlação significativa entre a relação SS/ATT, SS, VitC e ATT, quase todos os parâmetros físico químicos avaliados.

A identificação da correlação entre características de fácil mensuração como H, L, DC, DAC e as relacionadas a qualidade do fruto (VitC, pH e SS) é um dos objetivos dos programas de melhoramento genético por facilitar a seleção de genótipo com características superiores (Oliveira et al., 2011). Entretanto, a avaliação das características de grande importância econômica deve ser levado em consideração no processo de seleção de genótipos produtivos.

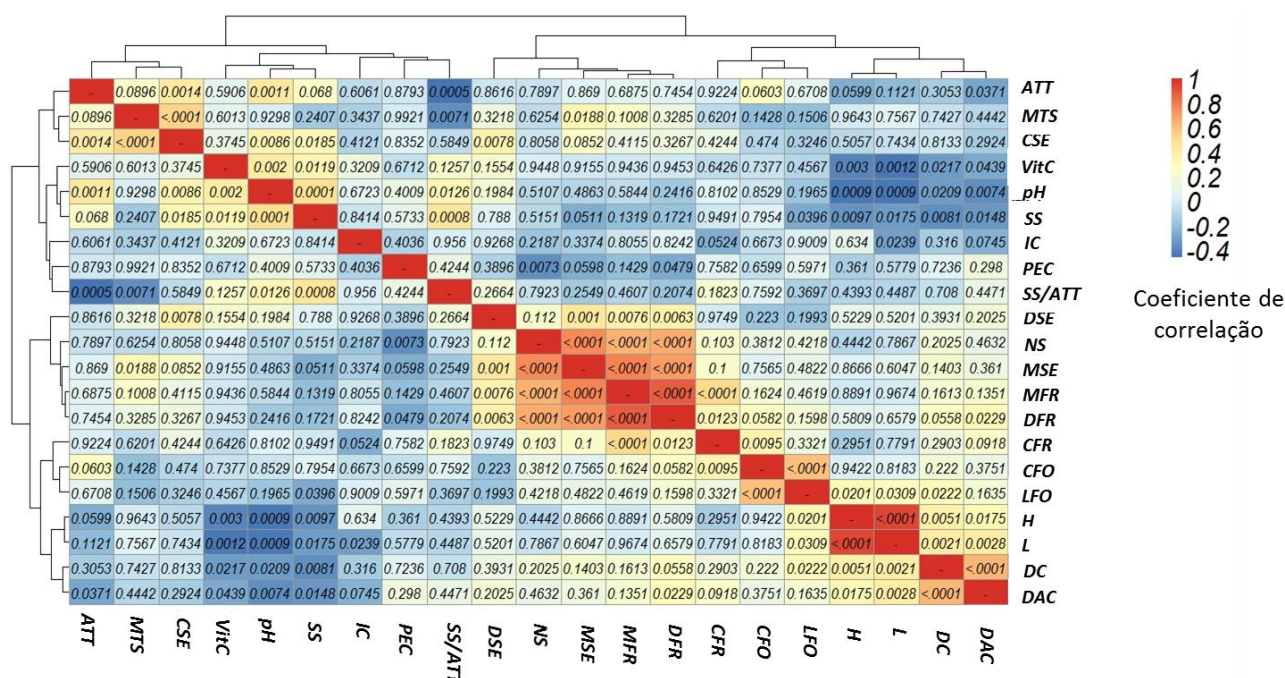


Figura 2. Estimativas e agrupamento das correlações de Pearson entre os descritores quantitativos pelo método UPGMA, a partir da distância euclidiana média padronizada, para características morfológicas e físico-química em 10 acessos do BGMangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros.

⁽¹⁾H, altura da planta; IC, inserção da copa; L, comprimento da copa; DC, diâmetro da copa; DAC, diâmetro do caule; CFO, comprimento da folha; LFO, largura da folha; CPE, comprimento do pecíolo; MFR, massa do fruto; CFR, comprimento do fruto; DFR, diâmetro do Fruto; NS, número total de sementes; MSE, massa da semente; MTS, massa total das sementes; CS, comprimento da semente; DS, Diâmetro da semente; ATT, acidez total titulável; VitC, vitamina C; pH, potencial Hidrogeniônico; SS, teor de sólidos solúveis; SS/ATT, quociente entre as variáveis SS e ATT. ⁽²⁾Coefficiente de correlação em cores e nível de significância estatística (p).

Reforçando os resultados apresentados na Figura 2, e com o intuito de eleger os descritores que mais contribuíram para expressar a variabilidade entre os acessos, o método de análise por componentes principais proporcionou a análise fatorial múltipla, facilitando a visualização dos descritores que mais contribuíram para expressar a variabilidade entre os acessos (Figura 3). As duas primeiras dimensões dos componentes principais representam 38,7% das informações contidas nos valores médios dos 21 descritores quantitativos analisados. Os descritores - DFR, MFR, MSE, NS, DAC, DC, L, H, pH, SS, VitC, CSE, ATT e DSE contribuíram para maior variabilidade entre os acessos. Enquanto os descritores IC, SS/ATT, CPE, CFO, CFR, MTS, foram os de menor impacto. A alta variabilidade morfológica encontrada nos descritores relacionados aos frutos (DFR, MFR, MSE e NS) já foi constatada em mangabeiras nativas (Freitas et al., 2012; Nascimento et al., 2014, Ganga et al., 2010), e é de grande importância por estarem relacionadas a características de interesse comercial. A contribuição para a variação dos acessos entre os descritores H, L, DC, DAC, que se encontram com valores negativos de Dim1 e Dim2, quando correlacionados com o descritores VitC, Ph e SS, contribuem de forma inversalmente proporcional, como confirmado pelos valores de correlação de Person (Figura 2).

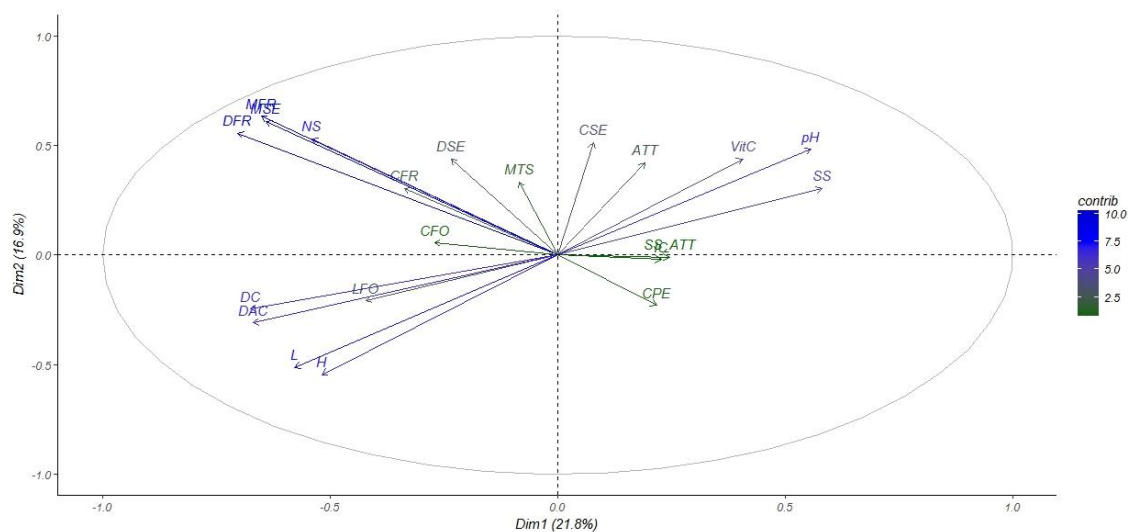


Figura 3. Análise fatorial múltipla dos descritores quantitativos avaliados em acessos do BGMangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros.

⁽¹⁾H, altura da planta; IC, inserção da copa; L, comprimento da copa; DC, diâmetro da copa; DAC, diâmetro do caule; CFO, comprimento da folha; LFO, largura da folha; CPE, comprimento do pecíolo; MFR, massa do fruto; CFR, comprimento do fruto; DFR, diâmetro do Fruto; NS, número total de sementes; MSE, massa da semente; MTS, massa total das sementes; CS, comprimento da semente; DS, Diâmetro da semente; ATT, acidez total titulável; VitC, vitamina C; pH, potencial Hidrogeniônico; SS, teor de sólidos solúveis; SS/ATT, quociente entre as variáveis SS e ATT.

Na análise de coordenadas principais (ACop), gerada a partir dos dados dos descritores morfológicos e físico-químicos, foi observada 37,6% de variância entre os acessos analisados (Figura 4). Estudos de divergência genética entre e dentro de grupos de germoplasma tem sido de grande importância por permitir identificar genitores que possibilitem expressar maior heterose, além de aumentar a obtenção de genótipos superiores (Vieira et al., 2009b). Assim, esses resultados permitiram a formação de três grupos distintos agrupados de acordo com a similaridade: o grupo 1 (G1), composto pelos acessos AD, BI, CA; o grupo 2 (G2), por AB, PA e PT e o grupo 3 (G3) por IP, LG, PR e TC. Em todos os três grupos, os acessos agrupados pertencem a diferentes centros de origem, o que pode ser um indicativo de haver alta diversidade morfológica e físico-químicas entre acessos do mesmo local.

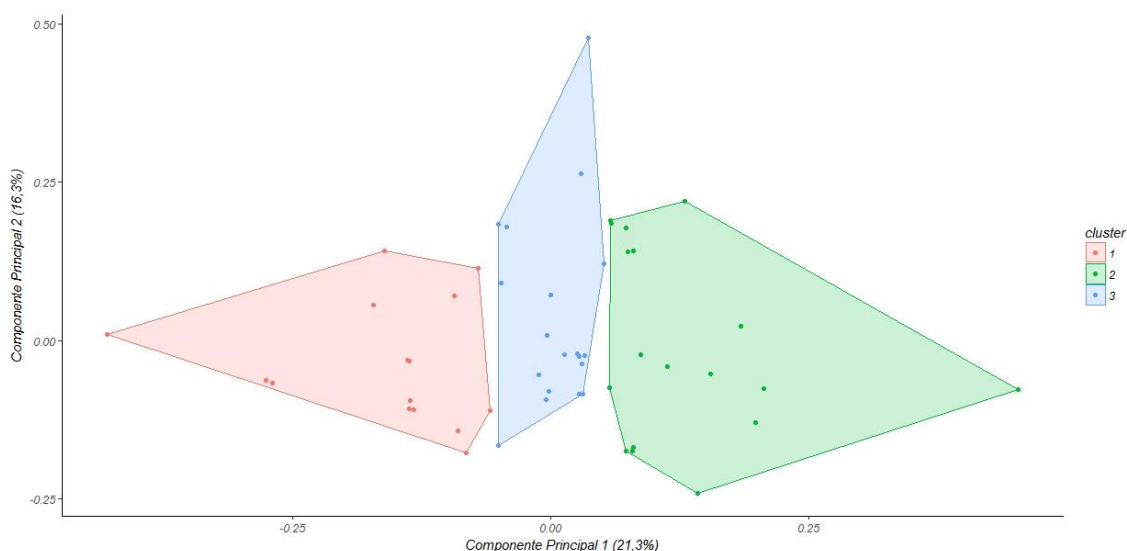


Figura 4. Análise de componentes principais (ACop), com variância total de 37,6%, utilizando descritores morfológicos e físico-químicos em 10 acessos do BGMangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros.

Cluster 1 – Acessos: AD, BI e CA, Costa Azul; Cluster 2 – Acessos: AB, PA e PT; Cluster 3 - Acessos: IP, LG, PR e TC.

⁽¹⁾AB, Água Boa; AD, Mata Redonda; BI, Barra de Itariri; CA, Costa Azul; IP, Ipiranguinha; LG, Lagoa Grande; PA, Paratibe; PR, Preguiça; PT, Pontal; TC, Terra Caída.

Apesar dos modelos estatísticos sugerirem que a predileção por alguns descritores avaliados (DFR, MFR, MSE, NS, DAC, DC, L, H, pH, SS, VitC, CSE, ATT e DSE) contribuíram para maior variação, na prática sabe-se que outros descritores são fundamentais para compor a caracterização de um germoplasma de mangabeira, como acidez total titulável, a relação SS/ATT e diâmetro do fruto, por exemplo. Uma vez que os frutos são utilizados para processamento, seus atributos de qualidade, não podem ser ignorados.

Portanto, estes resultados obtidos indicam a existência de variabilidade para todos os descritores analisados, e que estes irão colaborar nas estratégias de conservação desse germoplasma e em futuros programas de melhoramento da espécie.

4.4. Conclusões

Há alta diversidade genética no Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros.

Quatorze descritores expressaram a variabilidade do germoplasma de mangabeira – diâmetro do fruto (DFR), massa do fruto (MFR), massa da semente (MSE), número de sementes (NS), diâmetro do caule (DAC), diâmetro da copa (DC), Comprimento da copa (L), altura da planta (H), potencial hidrogeniônico (pH), teor de sólidos solúveis (SS), teor de vitamina C (VitC), comprimento da semente (CSE), acidez total titulável (ATT) e diâmetro da semente (DSE).

Os acessos AB, BI, CA, LG TC são os mais desenvolvidos do BAG mangaba.

Para os descritores de qualidade do fruto, os acessos TC, AB, AD, se destacam como atrativos, por suas características físico-químicas, e os acessos BI e TC com frutos de maiores massas, característica de interesse para o consumo *in natura* e processamento agroindustrial.

Agradecimentos

À Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal e Nível Superior (CAPES), pelo apoio e financeiro. À Embrapa Tabuleiros Costeiros e ao pesquisador Josué Francisco da Silva Júnior, curador do BGMangaba.

4.5. Referências Bibliográficas

AOAC Association of Official Analytical Chemistry. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemistry**. 14.ed.Washington, 1992. 1015 p.

AZEREDO, H.M.C.; BRITO, E.S. Tendências em Conservação de Alimentos. In: AZEREDO, H.M.C. **Fundamentos de Estabilidade de Alimentos**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2004. p.135-150.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº.1, de 7 de janeiro de 2000. **Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para suco de fruta**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília 10 de jan. Seção 1, 2000. 53p.

BRONDANI, C.; BRONDANI, R.P.V.; RANGEL, P.H. 2006. **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.

BURLE, M.L.; OLIVEIRA, M.S.P. **Manual de curadores de germoplasma - vegetal: caracterização morfológica**, Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. 15p.

CARNELOSSI, M.A.G.; TOLEDO, W.F.F.; SOUZA, D.C.L.; LIRA, M.L.; SILVA, G.F.; JALALI, V.R.R.; VIÉGAS, P.R.A. Conservação pós-colheita de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes). **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, p.1119-1125, 2004.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós - colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2a Ed. Lavras: UFLA, 2005. 783p

COSTA, T.S.; SILVA, A.V.C.; LÉDO, A.S.; SANTOS, A.R.F. Diversidade genética de acessos do banco de germoplasma de mangaba em Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, p.499-508, 2011.

FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.1039-1042, 2011.

FONSECA, C.E.L.; CONDÉ, R.C.C. Estimativa da área foliar em mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.29, p.593-599, 1994.

- FREITAS, M.K.C.; COIMBRA, R.R.; AGUIAR, G.B.; AGUIAR, C.B.N.; CHAGAS, D.B.; FERREIRA, W.M.; OLIVEIRA, R.J. Variabilidade fenotípica e caracterização morfológica de uma população natural de *Hancornia speciosa* Gomes. **Bioscience Journal**, v.28, p. 833-841, 2012.
- GANGA, R.M.D.; FERREIRA, G.A.; CHAVES, L.J.; NAVES, R.V.; NASCIMENTO, J. L. Caracterização de frutos e árvores de populações naturais de *Hancornia speciosa* Gomes do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, p.101-113, 2010.
- GILES, J.A.D.; OLIVARI, L.S.; ROCHA, A.C.B.; SCHMILDT, E.R.; SILVA, W.; FRANÇA, J.M. Correlações entre características físicas, químicas e físico-químicas de frutos de cirigueira. **Revista Agro@mbiente On-line**, v.10, p.30-35, 2016.
- GONÇALVES, L.G.V.; ANDRADE, F.R.; MARIMON JUNIOR, B.H.; SCHOSSLER, T.R.; LENZA, E. E MARIMON, B.S. Biometria de frutos e sementes de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) em vegetação natural na região leste de Mato Grosso, Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, vol.36, p.31–40, 2013.
- GOTOR, E.; ALERCIA, A.; RAMANATHA R.A.O, V.; WATTS, J.; CARACCIOLO, F. (2011) The scientific information activity of Bioversity International: the descriptor lists. Impact Assessment Discussion Paper 3. **Bioversity International**, 2011. 16 p.
- KASSAMBARA, A.; MUNDT, F. **Factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses**. R package, 2005.
- LIMA, C.A.; FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; Cohen, K.O.; GUIMARÃES, T.G. Características físico-químicas, polifenóis e flavonoides amarelos em frutos de espécies de pitaias comerciais e nativas do Cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, n.2, p.565-570, 2013.
- MONACHINO, J. A revision of *Hancornia* (Apocynaceae). **Lilloa**, v.11, p.19-48, 1945.
- NABOUT, J.C.; MAGALHÃES, M.R.; GOMES, M.A.A.; CUNHA, H.F. The Impact of global climate change on the geographic distribution and sustainable harvest of *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae) in Brazil. **Environmental Management**, v.57, p.814–821, 2016.
- NASCIMENTO, R.S.M.; CARDOSO, J.A.; COCOZZA, F.D.M. Caracterização física e físico-química de frutos de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) no oeste da Bahia. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.18, p.856-860, 2014.
- OLIVEIRA, E.J.; SANTOS, V.S.; LIMA, D.S.; MACHADO, M.D.; LUCENA, R.S.; MOTA, T.B.N. *Bragantia*, v.70, p.255-261, 2011.
- OLIVEIRA, D.D.S., LOBATO A.L., RIBEIRO, S.M.R., SANTANA, A.M.C., CHAVES, J.B.P., PINHEIRO, S. H.M. Carotenoids and vitamin C during handling and distribution of guava (*Psidium guajava* L.), mango (*Mangifera indica* L.), and papaya (*Carica papaya* L.) at commercial restaurants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p.6166–6172, 2010.
- PERFEITO, D.G.A.; CARVALHO, N.; LOPES, M.C.M.; SCHMIDT, F.L. Caracterização de frutos de mangabas (*Hancornia speciosa* Gomes) e estudo de processos de extração da polpa. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 2, p.1-7, 2015.

PLÁCIDO, G.R.; SILVA, R.M.; CAGNIN, C.; SILVA, M.A.P.; CALIARI, M. Physical and physicochemical composition of mangaba fruits (*Hancornia speciosa* Gomes) at three maturity stages. **African Journal of Agricultural Research**, v.11, p.1772-1776, 2016.

R Development Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Foundation for Statistical Computing; 2015.

SACRAMENTO, C.K.; MATOS, C.B.; SOUZA, C.N.; BARRETTO, W.S.; FARIA, J.C. Características físicas, físico-químicas e químicas de cajás oriundos de diversos municípios da região sul da Bahia. **Magistra**, v.19, p.283-289, 2007.

SANTOS, M.B.; CARDOSO, R.L.; FONSECA, A.A.O.; CONCEIÇÃO, M.N. Caracterização e qualidade de frutos de umbu-cajá (*Spondias tuberosa* X *S. mombin*) provenientes do Recôncavo Sul da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, p.1089-1097. 2010.

SCOTT, A.J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v.30, p.507-512, 1974.

SILVA, A.V.C.; LÉDO, A.S.; MUNIZ, E.N.; SANTOS, J.S.; FEITOSA, R.B.; ALMEIDA, C.S. Postharvest characterization of mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) from natural populations in Sergipe, Brazil. **Acta Horticulturae**, v.945, p.263-265, 2012.

SILVA JÚNIOR, J. F. MOTA, D. M.; GOMES, J. B. V. Representações de uma população tradicional de catadores acerca do extrativismo da mangaba no litoral sul de Sergipe. In: Simpósio Brasileiro sobre a Cultura da Mangaba, 2003, Aracaju. **Anais...** Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. CD-ROM

SILVA, S.A.; CRUZ, E.M.O.; REIS, R.V.; FERREIRA, C.F.; PASSOS, A.R. Caracterização morfológica e molecular de genótipos de mangaba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.35, p.1093-1100, 2013.

SOARES, F.P.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R.C.; OLIVEIRA, L.M.; SILVA, D.R.G. E PAIVA, P.D.O. 2006. **Cultura da Mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes)**. Boletim Agropecuário, Lavras/MG, n.67, p.1-12, 2006a.

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**, v.5, p.1180-1182, 2007b.

SOGI, D.S.; SIDDIQ, M.; ROIDOU, S.; DOLAN, K.D. Total Phenolics, Carotenoids, Ascorbic Acid, and Antioxidant Properties of Fresh-cut Mango (*Mangifera indica* L., cv. Tommy Atkins) as Affected by Infrared Heat Treatment. **Journal of Food Science**, v.77, p.1197-1202, 2012.

SOUZA, F.G. FIGUEIREDO, R.W.; ALVES, R.E.; MAIA, G.A.; ARAÚJO, I.A. Qualidade pós-colheita de frutos de diferentes clones de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, p.1449-1454, 2007.

VIEIRA, J.V.; SILVA, G.O.; BOITEUX, L.S.; SIMON, P.W. Diversidade genética entre acessos de cenoura pertencente a grupos varietais distintos utilizando caracteres morfológicos. **Horticultura Brasileira**, v.27, p.473-477, 2009.

ZIMMERMANN, A.P.L.; COSTA, E.A.; SCHRODER, T.; FLEIG, F.D. Modelação de incremento diamétrico de *Pinus taeda* em função das variáveis coroa e índice de competição. **Revista Floresta**, v.46, p.115-122, 2016.

5. ARTIGO 2: DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA EM GERMOPLASMA DE MANGABEIRA UTILIZANDO MARCADORES MICROSSATÉLITES

Periódico submetido (ou a ser submetido): American Journal of Botany

Marina Ferreira da Vitória¹; Aline de Jesus Sá²; Ana Letícia Sirqueira Nascimento¹; Tatiana Santos Costa³; Vânia Cristina Rennó Azevedo⁴ e Ana Veruska Cruz da Silva³

⁽¹⁾ Universidade Federal de Sergipe, Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Biodiversidade, Cidade Universitária Prof. José Aloísio de Campos, Avenida Marechal Rondon, s/n, Jardim Rosa Elze, CEP 49100-000 São Cristóvão, SE, Brasil. E-mail: marina_fv@hotmail.com, analeticia_16@hotmail.com ⁽²⁾ Universidade Federal de Sergipe, Núcleo de Estudos em Recursos Naturais, Cidade Universitária Prof. José Aloísio de Campos, Avenida Marechal Rondon, s/n, Jardim Rosa Elze, CEP 49100-000 São Cristóvão, SE, Brasil. E-mail: alinejesus.sa@bol.com.br ⁽³⁾ Embrapa Tabuleiros Costeiros, Avenida Beira Mar, no 3.250, CEP 49025-040 Aracaju, SE, Brasil. E-mail: tatianaitase@gmail.com, ana.veruska@embrapa.br e ⁽⁴⁾ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, CENARGEN, PqEB W5, Brasília, DF, Brasil. E-mail: vania.azevedo@embrapa.br

RESUMO

Premissas do estudo: Frutífera nativa do Brasil, a mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes – Apocynaceae) é uma espécie predominantemente extrativista, de ocorrência em várias regiões do país. O fruto pode ser consumido *in natura*, mas seu maior uso é na agroindústria, principalmente para fabricação de polpa congelada e sorvetes. Uma estratégia para conservação desse importante recurso genético, foi a implantação de uma Banco Ativo de Germoplasma (BGMangaba), mantido desde 2006 pela Embrapa Tabuleiros Costeiros, em Itaporanga d'Ajuda, SE, Brasil.

Métodos: Foi avaliada a diversidade genética entre os 213 indivíduos que compõem o BAG utilizando nove marcadores microsatélites (SSR). Esses indivíduos representam 22 acessos, com origem em sete estados brasileiros.

Resultados-Chaves: Observou-se 100% de polimorfismo entre os acessos. Foram identificados 147 alelos, com média de 16 alelos por loco. A confiabilidade foi verificada com valores de estresse (0,042) e correlação (0,988). Os alelos apresentaram alta frequência de heterozigosidade ($H_e > H_o$). Os valores de F_{st} (0,22) e de f (0,07) indicaram uma moderada estrutura populacional, e houve maior diversidade dentro dos acessos. A análise Bayesiana indicou um agrupamento mais adequado com $k=2$. No UPGMA foram formados três grupos distintos, agrupados de acordo com a similaridade.

Conclusão: Os acessos apresentaram alta diversidade e podem ser selecionados e utilizados em programas de melhoramento genético. O acesso BI apresenta a melhor estrutura genética. Os pares de indivíduos PM5/GX2, CN1/CN9, G18/PA1, JA14/JA15, OI8/OI9, todos pertencentes ao G3 são os mais próximos geneticamente. O indivíduo CA5 é o mais divergente que em relação aos demais.

Palavras-chave: *H. speciosa* Gomes; Variabilidade; SSR; Conservação

ABSTRACT

GENETIC STRUCTURE AND DIVERSITY IN GERMPLASM MANGABEIRA USING MICROSATELLITES MARKERS

Premise of the study: Trees native to Brazil and at risk of extinction, the mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes-Apocynaceae) is a species mainly extractive, occurrence in various regions of the country. The fruit can be eaten fresh, but your greatest use is in agro-industry, mainly for the manufacture of frozen pulp and ice cream. A strategy for conservation of this important genetic resource, was the deployment of a Active Germoplasm Bank (BGMangaba), kept since 2006 by Embrapa Coastal Tableland in Itaporanga d'ajuda, SE, Brazil.

Methods: It was assessed the genetic diversity among the 213 individuals that make up the BAG using 9 microsatellite (SSR) markers. These individuals represent 22 hits, in seven Brazilian States.

Results: There was observed 100% polymorphism between the accessions 147 alleles were identified, with an average of 16 alleles for loco. Reliability was verified with stress values (0.042) and correlation (0.988). The alleles showed high frequency of heterozygosity ($H_e > H_o$). F_{st} values (0.22) and D_f (0.07) indicated a moderate population structure, and there was greater diversity within the traffic. Bayesian analysis indicated a more appropriate group with $k=2$. In three distinct groups were formed UPGMA grouped according to similarity.

Conclusion: The accessions showed high diversity and can be selected and used in genetic improvement programs. BI access has the best genetic structure. The pairs of individuals PM5/GX2, CN1/CN9, G18/PA1, JA15, OI8/JA14/OI9, all belonging to the G3 are closest genetically. The individual is the most divergent CA5 that compared to other.

Key-words: *H. speciosa* Gomes; Variability; SSR; Conservation.

5.1. INTRODUÇÃO

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) é uma frutífera nativa do Brasil, da família Apocynaceae, que apresenta grande importância socioeconômica e cultural nas regiões de ocorrência. É encontrada naturalmente desde os Tabuleiros Costeiros e baixada litorânea do Nordeste até os Cerrados das regiões Centro-Oeste, Norte e Sudeste (Silva et al., 2011a).

Com flores hermafroditas, é considerada alógama e auto-incompatível (Darrault e Schlindwein, 2006). Seu fruto, principal produto, possui sabor agradável e consideráveis níveis de suplementos benéficos para a saúde, como as vitaminas A, B1, B2 e C, ferro, fósforo, cálcio e proteínas (Lederman et al., 2000). A polpa revela alta atividade antioxidante (Lima et al., 2015; Rufino et al., 2010), com sabor bastante apreciável pelos consumidores *in natura* e em polpa congelada, sorvetes e licores pela agroindústria (Moraes et al., 2008). Na medicina popular é utilizada contra tratamento de hipertensão, tuberculose, úlceras (Silva et al., 2011b; Moraes et al., 2008).

A espécie vem sofrendo uma redução nas áreas de ocorrência natural, com necessidade de estratégias de conservação (Silva et al., 2012). Assim, os Bancos Ativos de Germoplasmas (BAGs) foram criados com a finalidade de realizar pesquisas que visam à prospecção, coleta, caracterização, conservação *ex situ* e utilização de uma ampla variabilidade dos recursos genéticos. O conhecimento da diversidade genética entre acessos de um BAG resulta em informações de indivíduos potenciais para programa de melhoramento, identificação de possíveis duplicatas e o intercâmbio de germoplasma entre pesquisadores (Costa et al., 2011), de forma a conciliar o desenvolvimento sustentável com esforços da conservação.

Portanto, é de suma importância a manutenção do Banco Ativo de Germoplasma (BGMangaba) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), que foi implantado em 2006 em área de tabuleiros costeiros do Nordeste (Itaporanga d'Ajuda, SE), inicialmente com 11 acessos distribuídos em 55 indivíduos. Atualmente, o BGMangaba possui 213 indivíduos e é o fiel depositário da espécie no Brasil.

O conhecimento da estrutura genética é essencial para o melhoramento, conservação e na amostragem de bancos de germoplasma (Moura et al., 2011). A diferenciação genética em mangabeiras tem sido observada com o intuito de descrever a variabilidade presente em populações nativas (Silva et al., 2017; Soares et al., 2016; Amorim et al., 2015; Moura et al., 2011; Souza et al., 2010) e Bancos de Germoplasmas (Collevatti et al., 2016; Silva et al., 2012; Costa et al., 2011) empregando técnicas de biotecnologia com o uso dos marcadores moleculares. Para quantificar a variabilidade genética entre e dentro de populações, os marcadores microssatélites são ferramentas úteis nos estudos de diversidade e estrutura genética, com alta reprodutibilidade, adundância, multialélicos, codominância e distribuídos ao longo do genoma (Amorim et al., 2015).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a diversidade e estrutura genética do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros, utilizando marcadores microssatélites (SSR).

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba (BGMangaba), localizado no Campo Experimental da Embrapa Tabuleiros Costeiros, em Itaporanga d'Ajuda, SE (latitude 11°06'40" S e longitude 37°11'15"). Os primeiros acessos foram implantados em 2006, e atualmente o BAG consta de 213 indivíduos, que representam 22 acessos oriundos de sete estados (BA, SE, PB, PE, AL, PA, MG) distribuídos em três regiões (Norte, Nordeste, Sudeste). As coletas para introdução desses acessos ocorreram em plantas matrizes de populações nativas localizadas em diferentes estados brasileiros (Tabela 1; Figura 1), e a propagação foi realizada por sementes.

Tabela 1. Dados de passaporte dos acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros. Procedência, identificação, N - número de indivíduos, localização geográfica da região de origem de cada acesso.

Procedência	Código/Acesso	N	Latitude	Longitude
Jandaíra, BA	Costa Azul - CA	6	11°33'43"S	37°40'52"W
Conde, BA	Barra de Itariri - BI	6	11°48'34"S	37°40'52"W
Mata de São João, BA	Lagoa Grande - LG	6	12°31'52"S	38°18'04"W
Indiaroba, SE	Terra Caída - TC	6	11°31'10"S	37°30'47"W
Indiaroba, SE	Preguiça - PR	6	11°30'43"S	37°27'11"W
Indiaroba, SE	Pontal - PT	6	11°28'24"S	37°24'16"W
Salvaterra, PA	Água Boa - AB	6	0°45'22"S	48°30'55"W
Conde, PB	Ipiranguinha - IP	5	7°15'37"S	34°54'43"W
Alhandra, PB	Mata Redonda - AD	5	7°20'38"S	34°56'07"W
Conde, PB	Guaxinduba - GX	1	7°15'38"S	34°54'30"W
João Pessoa, PB	Paratibe - PA	4	7°12'25"S	34°49'36"W
Barra dos Coqueiros, SE	Capoã - CP	18	10°51'50"S	36°58'51"W
Palmeiras, BA	Casas Velhas - CV	18	12°25'38"S	41°29'26"W
Rio Pardo de Minas, MG	Chapada do Areião - CH	17	15°29'21"S	42°28'10"W
Montes Claros, MG	Tabua - TA	11	16°43'43"S	43°51'29"W
Couto Magalhães, MG	Magalhães de Minas - CM	15	18°4'18"S	43°28'17"W
Sinhaém, PE	Guaíamum - GU	15	8°37'17"S	35°03'22"W
Ipojuca, PE	Oiteiro - OI	17	8°23'53"S	35°03'39"W
Japaratinga, AL	Japaratinga - JA	17	9°05'23"S	35°15'29"W
Maragogi, AL	Ponta do Mangue - PM	14	9°0'37"S	35°13'14"W
Tamandaré, PE	Tamandaré - TM	2	08°45'36"S	35°06'18"W
Tamandaré, PE	Carneiros - CN	12	08°45'35"S	35°06'17"W

N = número de indivíduos

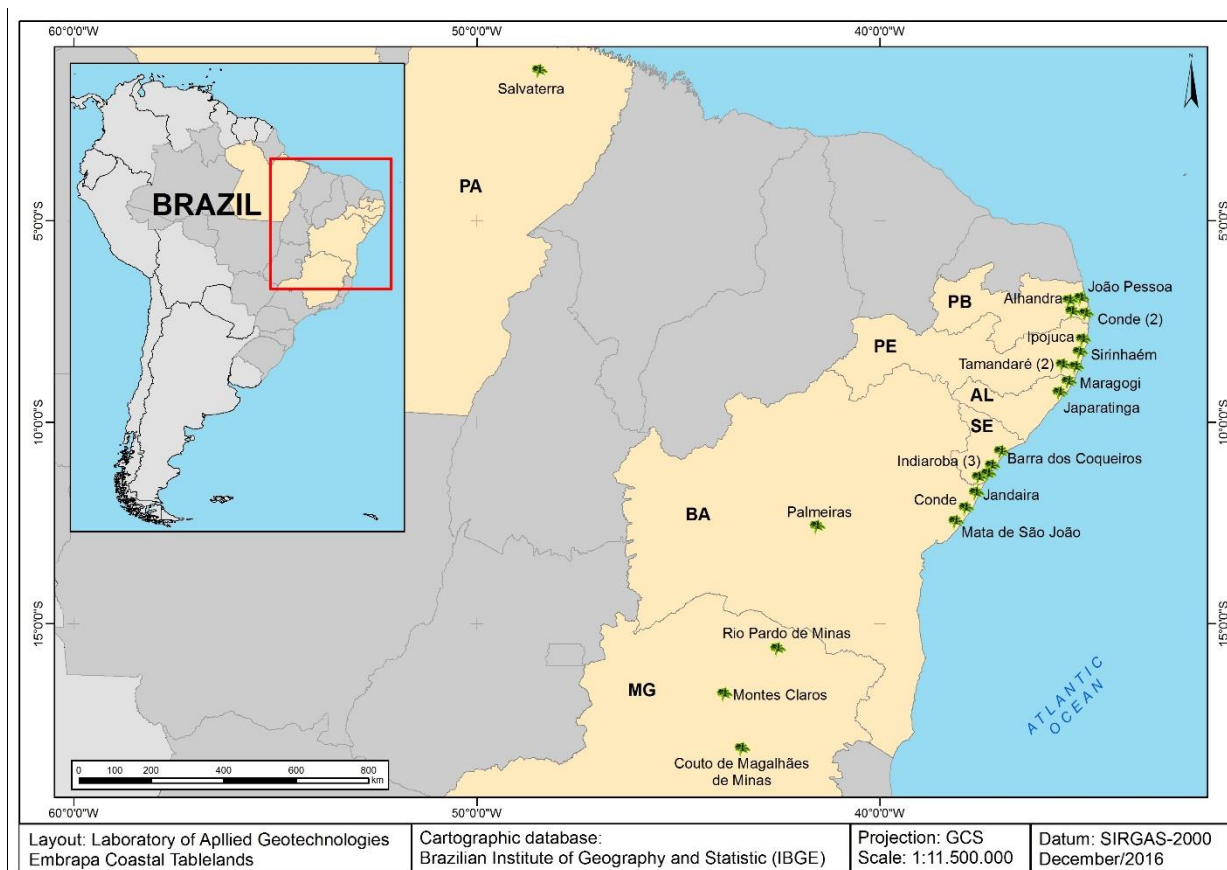


Figura 1. Procedência dos acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros.

Para a genotipagem foram coletadas folhas jovens previamente identificadas de todos os 213 indivíduos. As folhas foram acondicionadas em isopor com gelo para transporte e posteriormente, armazenados a -80°C , no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Tabuleiros Costeiros, até o momento da extração do DNA genômico.

O DNA genômico foi extraído de aproximadamente 200 mg de folhas de cada indivíduo, maceradas em nitrogênio líquido, usando-se o método CTAB descrito por Doyle e Doyle (1990) com adaptações sugeridas por Alzate-Marin et al. (2009). A solução de extração foi constituída de CTAB 2% (Tris HCl 100 mM, pH 8,0; Cloreto de sódio 1,4M; EDTA 20mM); 2%PVP (polivinilpirrolidona) e 2% β -mercaptoetanol) pré-aquecida a 65°C . A concentração do DNA foi estimada por espectrofotometria (NanoDrop 2000C - Thermo Scientific) e sua integridade analisada por eletroforese em gel de agarose a 1% (p/v) corado com brometo de etídio (Sambrook et al. 1989). Após a padronização nas concentrações de 3 ng/ μL , as amostras foram utilizadas nas reações de PCR.

Os indivíduos foram genotipados no Laboratório de Genética Vegetal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN), Brasília, DF. Foram testados nove pares de marcadores microssatélites desenvolvidos por Rodrigues et al. (2015) e marcados com os fluorocromos: 6-FAM ou HEX (Tabela 2). Cada reação de amplificação foi realizada utilizando um volume total de 13 μL de solução contendo: 9 ng de DNA, 0,25 mg/mL de BSA (albumina bovina sérica), 0,2 μM de cada

marcador (25pmol), 1x de tampão para PCR (10X), 0,25 mM de mix de dNTPs (2,5 mM), 1U de Taq DNA polimerase e água ultrapura estéril.

As amplificações foram realizadas em termociclador da marca Veriti 96 Fast (Applied Biosystems/USA), nas seguintes condições: um ciclo inicial de 94°C por 1 minuto, seguido de 35 ciclos de 95°C por 1 minuto, a temperatura ideal para cada loco (Tabela 2) por 1 minuto, 72°C por 1 minuto e um ciclo de extensão final a 72°C por 20 minutos, seguida de resfriamento a 12°C. Um controle negativo contendo todos os componentes da PCR, exceto DNA (substituído por água) foi incluído em cada experimento para testar a contaminação dos experimentos por DNA exógeno.

O resultado da amplificação foi verificado por eletroforese em gel de agarose a 2% (p/v) corado com brometo de etídio (0,5 µg ml⁻¹) (Sambrook et al., 1989) e fotodocumentados sob luz ultravioleta em fotodocumentador (Kodac Gel Logic 200 Imaging System). Para a comparação do tamanho dos fragmentos amplificados foi utilizado o marcador de DNA 1Kb Ladder (Invitrogen).

Em seguida, para as análises dos fragmentos obtidos, 1 µL de cada reação foi misturado a 10 µL de formamida HiDi (Applied Biosystems, Foster City, CA) e 1 µL de marcador interno carboxy-X-rhodamine (ROX), desenvolvido por Brondani e Grattapaglia (2001). A solução resultante foi desnaturada por 5 minutos a 95°C. Em seguida, foi realizada a separação dos fragmentos em analisador automático de DNA ABI 3730 (Applied Biosystems, Foster City, CA).

Tabela 2 – Relação dos pares de marcadores microsatélites utilizados para estudo de diversidade genética em germoplasma de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes).

Ta: temperatura de anelamento do iniciador; Motivo de repetição: Motivo de repetição da região microsatélites; AVA: intervalo de variação da amplitude alélica de cada loco microsatelite (pb) e fluorescência: fluorocromo utilizado no iniciador.

Marcador	Ta (°C)	Motivo de repetição	AVA (pb)*	Fluorescência
HS01	52	(GA) ₆ (TC) ₂₀ (GCA) ₈	250 a 310	HEX
HS03	56	(CT) ₅ (CT) ₆	120 a 180	6-FAM
HS05	56	(GA) ₁₅ (TGC) ₆	200 a 300	HEX
HS08	56	(CA) ₆ (CT) ₁₇	200 a 250	6-FAM
HS10	56	(CT) ₁₄ (CT) ₈	100 a 200	HEX
HS11	56	(GA) ₁₇	100 a 200	6-FAM
HS16	60	(GA) ₁₂	100 a 150	6-FAM
HS27	52	(GA) ₁₄	100 a 150	6-FAM
HS33	56	(AG) ₂₄	80 a 120	6-FAM

*pb= Pares de base

O padrão de bandas observadas foi transformado em matrizes de dados para estimar todas as análises da diversidade genética.

A detecção dos picos de fluorescência e a genotipagem foram efetuadas com o programa Genemapper versão 4.1 (Applied Biosystems) (Figura 2). O tamanho dos alelos foi ajustados para classes alélicas definidas através do programa AlleloBin (Prasanth et al., 2006).

Para a obtenção dos resultados de variabilidade genética, a genotipagem foi determinada a partir da análise dos fragmentos, que permitiu inferências sobre a distância genética entre os

indivíduos. Para determinar o número de fragmentos amplificados necessários em estudos de diversidade, foram obtidas as estimativas de correlação (r) de valores da matriz de similaridade e o valor de estresse (E), que expressa o ajuste entre a matriz original e a matriz simulada. O número ótimo de fragmentos foi calculado por meio do programa GENES (Cruz, 2007) e considerado aceitável para as análises quando o valor do estresse foi inferior a 0,05 (Kruskal, 1964) e correlação próxima de 1.

A variabilidade genética intrapopulacional (dentro dos acessos) foi determinada a partir das estimativas da frequência alélica e número médio de alelos por loco (A), heterozigosidade observada (H_o), heterozigosidade esperada (H_e) e índice de fixação (f) pressupondo que os locos estejam em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE). As análises foram calculadas utilizando o programa GDA (Lewis e Zaykin, 2001).

Hipóteses nulas foram testadas para os acessos e os locos para detecção do equilíbrio de Hardy-Weinberg e equilíbrio de ligação, utilizando a correção de Bonferroni (Goudet, 1996) para um nível de $p < 0,05$, através do programa FSTAT (Goudet, 2001). Para a caracterização da variabilidade genética intrapopulacional (dentro dos acessos) e entre grupos (estados de origem), foram estimados os parâmetros de Weir e Cockerham (1984): F_{it} , que estima a deficiência global de heterozigotos, o F_{st} que estima a deficiência de heterozigotos entre as populações (acessos) e o F_{is} que estima a deficiência de heterozigotos dentro das populações (acessos). No programa também foi calculado o G_{st} (Nei, 1973), R_{st} (Goodman, 1997) levando em consideração o modelo *stepwise mutation model*

A Análise de Variância Molecular (AMOVA), obtida pelo programa ARLEQUIN v. 3.1 (Excoffier et al., 2005), foi realizada para caracterizar a variância existente entre e dentro dos acessos de mangabeira. A base da análise parte da matriz das distâncias quadráticas de todos os pares de bases de haplótipos. O programa divide a variância molecular em dois componentes ou níveis hierárquicos: entre acessos de cada estado e dentro de cada acesso, utilizando para isso 1000 permutações. O programa também foi utilizado para calcular uma matriz de pares de F_{ST} (índice de fixação entre acessos) (Weir e Hill, 2002) para todas os acessos.

Para as análises de estrutura genética populacional foi utilizado o programa Structure v.2.3.4, que emprega o método bayseano através de uma análise de clusterização probabilística (Pritchard et al., 2000). Esse modelo utiliza simulações de MCMC (Monte Carlo via Cadeia de Markov) para estimar a associação de grupo de cada indivíduo, assumindo equilíbrio de Hardy-Weinberg e de ligação dentro dos grupos, acasalamento ao acaso dentro dos acessos e recombinação livre entre locos (Pritchard et al., 2000), sem suposições sobre os limites dos acessos. Assumindo que cada indivíduo pode ter ancestrais de mais de um acesso, e frequências alélicas correlacionadas entre os acessos foram estimados os valores de K (número de acessos ou agrupamentos distintos), variando de 1 a 25, com 1.000.000 reamostragens e 20 interações. O número de agrupamentos foi inferido pelo método

proposto por Evanno et al. (2005), considera a taxa de variação da probabilidade de log de dados entre sucessivos valores de K.

Determinou-se a matriz de distância euclidiana média entre os acessos como medida de dissimilaridade, pelo programa GENES. Baseado na matriz, foi gerado um dendrograma, utilizando o método de agrupamento da média das distâncias (UPGMA) pelo programa R com o uso do pacote DENDEXTEND (Galili, 2015) e por meio da função HCLUST do pacote FACTOEXTRA (Kassambara e Mundt, 2005) do programa estatístico R (R Development Core Team, 2015).

5.3. RESULTADOS

Os nove locos analisados (HS01, HS03, HS05, HS08, HS10, HS11, HS16, HS33) foram todos polimórficos e distribuídos em 147 alelos, variando de seis a 33, com média de 16 alelos por loco (Tabela 3), confirmando o alto conteúdo de informação genética.

Tabela 3. Diversidade genética dentro dos acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros, obtida por 9 locos de microssatélites.

P = proporção de locos polimórficos; N_a = número de alelos; H_o = frequências de heterozigotos observadas; H_e = frequências de heterozigotos esperadas; f = endogamia intrapopulacional/ índice de fixação.

Loco	P (%)	N_a	H_e	H_o	f
HS01	100	33	0,872	0,706	0,191
HS03	100	6	0,246	0,073	0,704
HS05	100	18	0,772	0,461	0,404
HS06	100	21	0,765	0,584	0,237
HS08	100	15	0,803	0,589	0,266
HS10	100	8	0,564	0,657	-0,165
HS16	100	22	0,760	0,718	0,055
HS27	100	11	0,430	0,243	0,435
HS33	100	13	0,689	0,584	0,152
Média	100	16	0,656	0,513	0,253

A confiabilidade dos resultados foi verificada observando-se o valor do estresse (0,042) e da correlação cofenética (0,988), que alcançaram estabilidade quando foram atingidos 12 locos amplificados ($r = 0,9$) para os 213 indivíduos de mangabeira analisados (Figura 2). Segundo Kruskal (1964), um valor de $E < 0,05$ é sugestivo de uma ótima precisão nas estimativas.

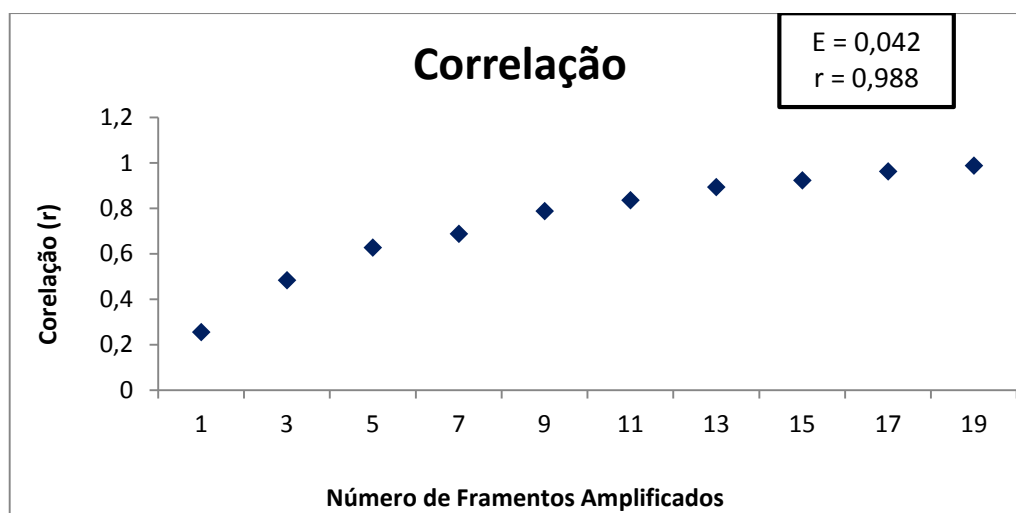


Figura 2. Coeficiente de correlação para o número de fragmentos polimórficos utilizando marcadores microssatélites entre 22 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros.

Na maioria dos acessos avaliados (Tabela 4) obteve-se valor de H_o superior ao H_e , que sugere a existência de maior proporção de heterozigotos. A proporção média de polimorfismo foi de 91%. Os valores de f positivos e negativos indicam que existem acessos com tendência à endogamia (CM, CP, TA, CV, CH, GX, AD, PR, TC, LG, BI, CA e TM) e outros, ao equilíbrio de Hardy-Weinberg (acessos JA, GU, OI, PM, CN, PA, IP, AB, PT).

Tabela 4. Diversidade genética dentro dos acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros, obtida a partir de nove locos de microssatélites.

n = número de indivíduos analisados por locos; P = proporção de locos polimórficos, H_o = frequências de heterozigotos observadas; H_e = frequências de heterozigotos esperadas; f = endogamia intrapopulacional/ índice de fixação

Acesso	n	P (%)	H_e	H_o	f
JA	15	100	0,494	0,478	-0,036
GU	13	89	0,523	0,521	-0,002
OI	16	89	0,454	0,432	-0,054
CM	12	100	0,568	0,675	0,164
CP	15	100	0,414	0,450	0,082
TA	9	100	0,567	0,609	0,072
CV	15	89	0,523	0,562	0,068
CH	15	100	0,546	0,749	0,278
PM	13	100	0,547	0,531	-0,032
CN	11	88	0,534	0,485	-0,107
PA	4	78	0,472	0,373	-0,328
GX	1	78	0,778	0,778	0,000
AD	4	89	0,539	0,585	0,089
PR	5	78	0,511	0,511	0,001
TC	5	89	0,289	0,497	0,444
LG	5	89	0,420	0,588	0,301
IP	4	89	0,606	0,594	-0,019
AB	5	87	0,646	0,536	-0,232
PT	5	89	0,659	0,608	-0,115
BI	5	100	0,489	0,701	0,320
CA	5	89	0,396	0,570	0,326
TM	2	89	0,611	0,629	0,043
Média		91	0,566	0,527	0,082

A matriz de dissimilaridade baseada nas estimativas de F_{st} entre os 22 acessos de mangabeira apresentou valor mínimo de -0,135 e máximo de 0,482 (Tabela 5) para os pares formados entre os acessos GX/CV e CA/PA, respectivamente.

Tabela 5. Matriz de divergência genética com estimativas de F_{st} entre os acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba, Itaporanga d'Ajuda, Sergipe.

Costa Azul – CA, Barra de Itariri – BI, Lagoa Grande – LG, Terra Caída – TC, Preguiça – PR, Pontal – PT, Água Boa – AB, Ipiranguinha – IP, Mata Redonda – AD, Guaxinduba – GX, Paratibe – PA, Capoa – CP, Casas Velhas – CV, Chapada do Areião – CH, Tabua – TA, Magalhães de Minas – CM, Guaiaumum – GU, Oiteiro – OI, Japaratinga – JÁ, Ponta do Mangue – PM, Tamandaré – TM, Carneiros – CN

	CV	LG	BI	CA	CP	TC	PR	PT	AB	PA	IP	GX	AD	TA	CH	CM	CN	OI	GU	TM	PM	JP
CV	-																					
LG	0,020*	-																				
BI	0,245*	0,203*	-																			
CA	0,448*	0,344*	0,050ns	-																		
CP	-,012 ^{ns}	-0,017*	0,133*	0,289*	-																	
TC	0,057*	-0,037*	0,162*	0,256*	-0,001*	-																
PR	0,117*	0,005 ^{ns}	0,206*	0,245*	0,021*	-0,080*	-															
PT	0,163*	0,101*	0,250*	0,315*	0,090*	0,022*	-0,002*	-														
AB	0,206*	0,158*	0,273*	0,328*	0,130*	0,048*	0,029*	-0,058*	-													
PA	0,153*	0,123*	0,295*	0,482*	0,093*	0,213*	0,346*	0,403*	0,456*	-												
IP	0,152*	0,118*	0,050*	0,192*	0,070*	0,047*	0,103*	0,182*	0,202*	0,231*	-											
GX	-0,135*	0,037*	0,042*	0,301*	-0,122*	0,030*	0,172*	0,172*	0,221*	0,218*	-0,078*	-										
AD	0,022*	-0,069*	0,096*	0,138*	-0,071*	-0,121*	-0,053*	0,042*	0,094*	0,223*	-0,033*	0,009*	-									
TA	0,127*	0,154*	0,208*	0,391*	0,105*	0,109*	0,137*	0,137*	0,113*	0,340*	0,177*	0,077 ^{ns}	0,134*	-								
CH	0,116*	0,159*	0,184*	0,363*	0,126*	0,124*	0,142*	0,120*	0,107*	0,307*	0,159*	0,009 ^{ns}	0,128*	-0,007*	-							
CM	0,160*	0,129*	0,047*	0,152*	0,097*	0,089*	0,080*	0,124*	0,140*	0,249*	0,091*	0,042*	0,006*	0,136*	0,143*	-						
CN	0,053*	-0,019*	0,174*	0,276*	0,004*	-0,046*	-0,049*	0,040*	0,079*	0,201*	0,077*	0,014*	-0,111*	0,140*	0,149*	0,090*	-					
OI	0,095*	0,028*	0,069*	0,146*	0,025*	-0,004*	-0,024 ^{ns}	0,068*	0,099*	0,190*	0,047*	0,005*	-0,117*	0,149*	0,163*	0,048*	-0,008 ^{ns}	-				
GU	0,146*	0,051*	0,074*	0,122*	0,049*	0,014*	-0,009*	0,102*	0,135*	0,222*	0,067*	0,074*	-0,115*	0,201*	0,210*	0,077*	0,017*	-0,022*	-			
TM	0,301*	0,249*	-0,093*	0,097*	0,152*	0,208*	0,268*	0,317*	0,345*	0,304*	0,059*	-0,060*	0,102*	0,268*	0,249*	0,033*	0,218*	0,099*	0,125*			
PM	0,068*	-0,030*	0,180*	0,276*	0,002 ^{ns}	-0,037*	-0,022 ^{ns}	0,085*	0,133*	0,176*	0,097*	0,068	-0,099*	0,178	0,190*	0,103*	-0,030*	-0,011*	0,0 ^{ns}	0,220*	-	
JP	0,059*	0,031*	0,148*	0,255*	0,025*	-0,005*	-0,017 ^{ns}	0,041*	0,069*	0,218*	0,079*	-0,031	-0,075*	0,111	0,121*	0,064*	-0,018*	0,000*	0,040*	0,177*	0,010*	-

^{ns}= não significativo e *= significativo (p< 0,05)

Considerando-se a origem geográfica e os valores da matriz de F_{st} , G_{st} e R_{st} , confirmou-se a alta diversidade genética existente entre os acessos (Tabela 6). O acesso oriundo do Pará (AB) foi excluído dessa análise, em virtude de só possuir um indivíduo.

Tabela 6 - Índices de diversidade genética entre acessos (G_{ST} , F_{ST} , R_{ST}), índice de fixação total (F_{IT}) e índice de fixação dentro dos acessos (F_{IS}) obtidos para diferentes acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros.

Grupos	G_{st}	R_{st}	F_{st}	F_{it}	F_{is}
Acessos (22)	0,147**	0,251**	0,166**	0,225**	0,071 ^{ns}
Bahia (4)	0,069**	0,2723**	0,129**	0,291**	0,186 ^{ns}
Sergipe (4)	0,131**	0,2605**	0,194**	0,277**	0,103 ^{ns}
Paraíba (4)	0,052**	0,0308**	0,070**	0,027 ^{ns}	-0,047 ^{ns}
Minas Gerais (3)	0,107**	0,0650**	0,107**	0,300**	0,216**
Pernambuco (4)	0,035**	0,0517**	0,045**	-0,002 ^{ns}	-0,050 ^{ns}
Alagoas (2)	0,027**	0,0179**	0,053**	0,022 ^{ns}	-0,033 ^{ns}

**Significativo ($p < 0,01$), ns= não significativo.

Ao ser utilizado o coeficiente de endogamia F (Wright, 1951) é possível estimar a correlação das frequências alélicas intra e entre acessos. Com base nesse coeficiente, foi possível calcular a AMOVA (Tabela 7), cujos resultados possibilitaram estimar que a maior variância genética foi observada na análise entre indivíduos (82,91%) e a menor fração de variância entre os acessos (17,09%).

Tabela 7. Análise de variância molecular (AMOVA) realizada para os 22 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros analisadas a partir de nove marcadores microssatélites.

Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Componentes de variação	Variação (%)	P-valor
Entre acessos	21	204,099	0,44277	17,09	< 0,001
Dentro dos acessos	403	788,314	2,14806	82,91	< 0,001
Total	424	992,413	2,59083		

A estrutura genética populacional dos 213 indivíduos foi avaliada pela análise Bayesiana (Figura 5) e agrupamento por UPGMA (Figura 6), proporcionando métodos complementares de visualização de similaridade e divergência genética.

Na análise de ΔK , de acordo com o método descrito por Evanno et al. (2005), o valor máximo ocorreu em $K=2$ (Figura 3). No K igual a 2, os acessos do BAG foram divididos em dois grupos. O grupo 1 reuniu os acessos JA, GU, OI, CP, PM, CN, PA, GX AD, PR, TC, IP, CA, TM, a maioria

dos acessos originários dos estados de Pernambuco, Paraíba e Sergipe. O grupo 2 reuniu os acessos CM, TA, CV, CH, LG, AB, PT, BI, a maioria dos acessos do Estados de Minas Gerais e Bahia.

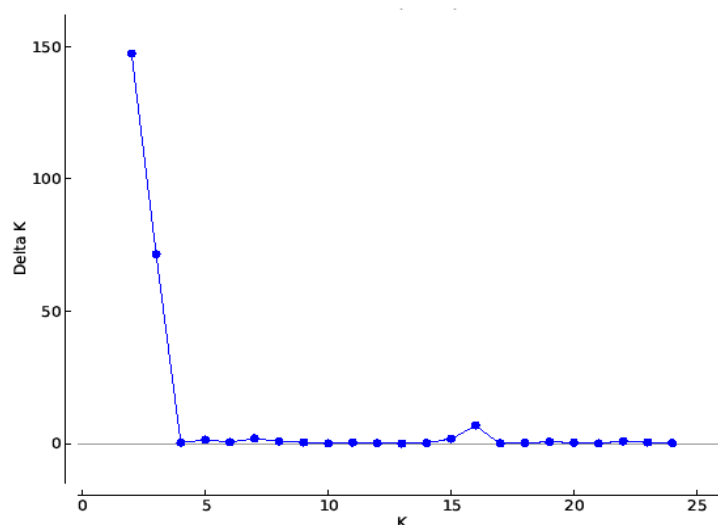


Figura 3. ΔK para cada valor de K, calculado de acordo com o proposto por Evanno et al. (2005). O maior valor de ΔK corresponde ao K ótimo para os 213 indivíduos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba.

A estrutura genética das populações (Figura 4), possibilitou visualizar a formação de grupos distintos, relacionados a distribuição de seus alelos, podendo diferenciar-se claramente dois grupos de acessos. Isto é corroborado pelos resultados da AMOVA que indicam menor variância entre acessos (17,09%) que entre indivíduos (82,91%).

Assim é possível observar que os acessos JA, GU, OI, CM, CP, TA, CH, PM, CN, AD, TC, AB, PT e TM foram mais homogêneos no que se refere à distribuição dos seus alelos (com maior predominância de barras em uma cor). Nos acessos CV, PA, GX, PR, LG, IP, BI e CA houve maior variação dos seus alelos (com distribuição de barras das duas cores), e o acesso BI com melhor distribuição na estrutura genética. Estes resultados sugerem alta diversidade.

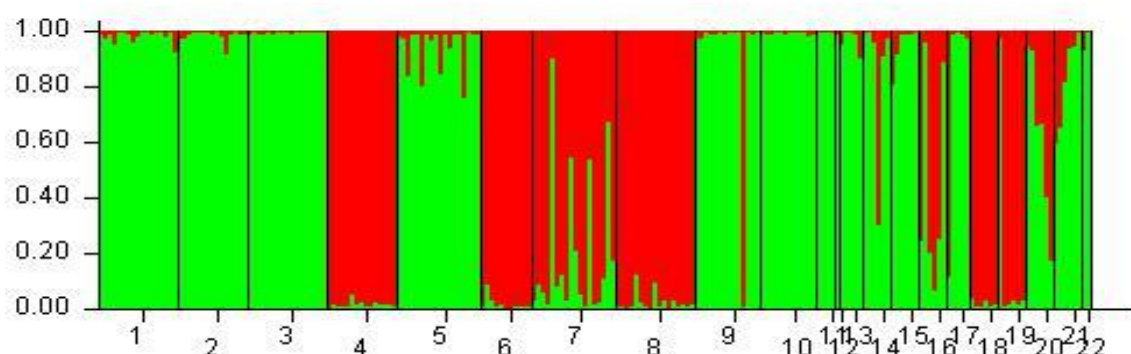


Figura 4. Representação dos 22 acessos de *Hancornia speciosa* Gomes do Banco Ativo de Germoplasma em 2 grupos com 9 marcadores microssatélites, utilizando o programa Structure. Os indivíduos estão representados por barras verticais com coloração de acordo com o grupo ao qual pertence ($K=2$). As amostras ordenadas por: 1 = JA, 2 = GU, 3 = OI, 4 = CM, 5 = CP, 6 = TA, 7 = CV, 8 = CH, 9 = PM, 10 = CN, 11 = PA, 12 = GX, 13 = AD, 14 = PR, 15 = TC, 16 = LG, 17 = IP, 18 = AB, 19 = PT, 20 = BI, 21 = CA, 22 = TM.

O método de agrupamento UPGMA possibilitou a formação de dois grandes grupos (Figura 5), de acordo com a similaridade. No grupo G1, o indivíduo CA5 é o mais distante dos demais. O grupo G2 foi dividido em 07 subgrupos (SG1 a SG7). Os pares de indivíduos PM5/GX2, CN1/CN9, GU8/PA1, JA14/JA15, OI8/OI9, todos pertencentes ao G2 são os mais próximos geneticamente. Sendo que os pares CN1/CN9, JA14/JA15, OI8/OI9 foram agrupados por indivíduos pertencentes ao mesmo acesso, portanto podem ser duplicatas.

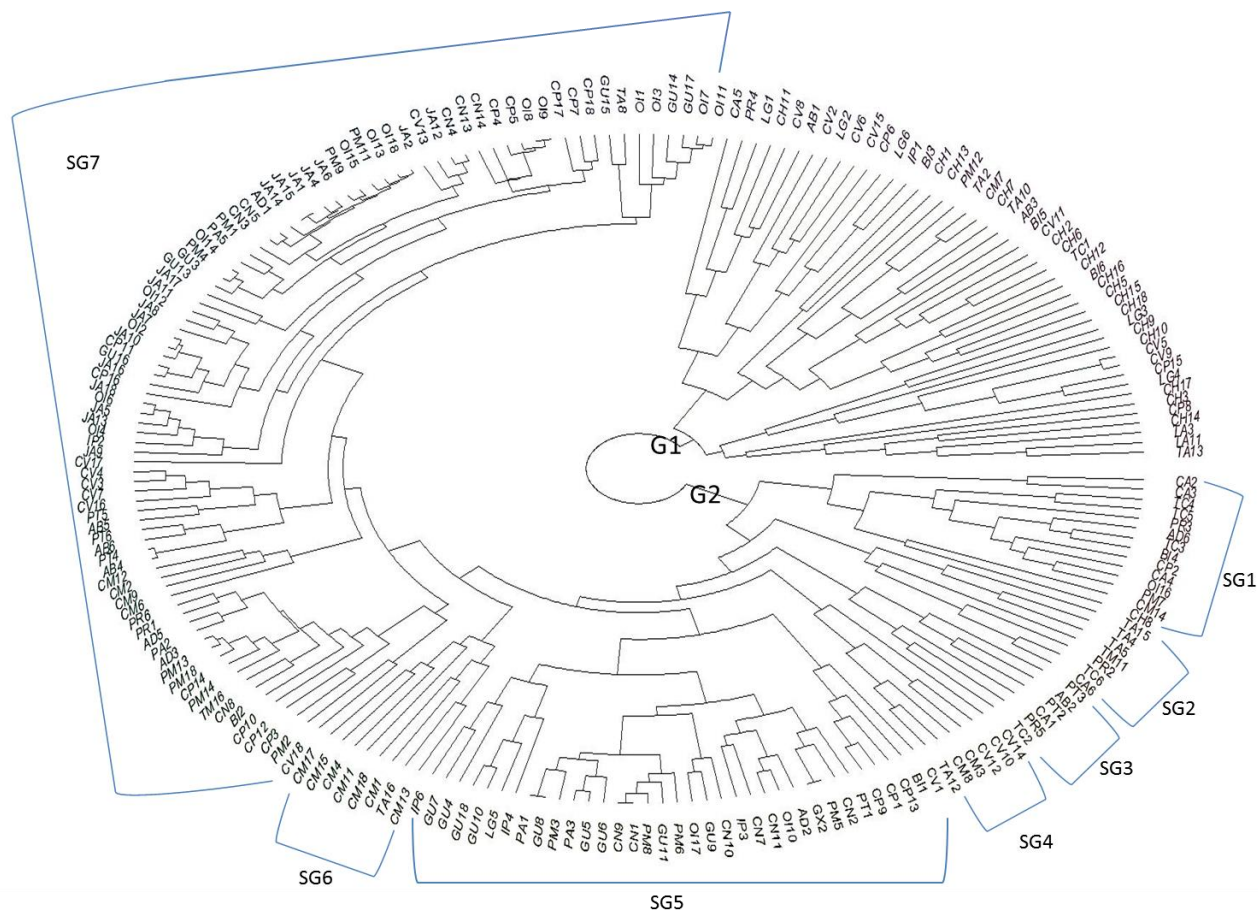


Figura 5. Dendrograma dos 213 indivíduos que compõem o Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros, com base na matriz de dissimilaridade genética (índice de média ponderada).

Ao analisar simultaneamente as informações contidas no UPGMA e análise Bayesiana foi verificada uma associação nos agrupamentos considerando os dois métodos. Desse modo, a maioria dos acessos presentes no G1 do *Structure* agrupou no G2 do UPGMA. O grupo G2 do *Structure* reuniu a maioria dos acessos no G1 e G2 do UPGMA.

5.4. DISCUSSÃO

Os locos obtidos tiveram médias superiores às apresentadas por Rodrigues et al. (2015), em estudo de diversidade em mangabeira com média de 8,11 alelos por loco, enquanto neste trabalho a média apresentada foi de 16 (Tabela 3). Collevatti et al. (2016), obtiveram valores médio de alelos por loco semelhante (17,1), variado de 2 a 27 em estudos de diversidade genética de mangabeiras da coleção de germoplasma da Escola de Agronomia, Universidade de Goiás. Todos os locos analisados indicaram tendência ao equilíbrio de Hardy-Weinberg e os testes de probabilidade de desequilíbrio de ligação, em todos os acessos, não mostraram associações entre os locos, assumindo independência estatística para todos os locos analisados. O marcador HS10 foi o único que apresentou uma maior proporção de heterozigotos. Os valores de f , para todos os marcadores foi baixo, entre esses, o marcador HS03 foi o que apresentou maior valor (0,704). O número de alelos pode ser afetado por diferenças no tamanho amostral, interferindo no número de alelos médios por locos (Kalinowski, 2004).

O polimorfismo detectado (Tabela 4) foi superior aos de Amorim et al. (2015) e Jimenez et al. (2015), que avaliaram populações nativas de mangabeira no nordeste. Apesar das oscilações entre os valores de f , estes ainda são considerados baixos, demonstrando alta frequência de heterozigotos entre os locos analisados para cada acesso.

Ao analisar a diversidade genética existente nos acessos do BAG Mangaba (Tabela 4), foi observado que o valor médio de H_e foi superior ao H_o (0,566). Valores altos de H_e também foram encontrados por Rodrigues et al. (2015), com valor médio de H_e em 0,77 utilizando 34 marcadores SSR. Entretanto, onze acessos apresentaram altas frequências de heterozigosidade (CM, CP, TA, CV, CH, AD, TC, LG, BI, CA, TM), o que pode indicar que estes acessos estejam com boa representatividade do germoplasma. Alguns acessos (JA, GU, OI, PM, CN, PA, GX, PR, IP, AB e PT) apresentaram menor frequência de heterozigotos, o que pode ser um indicativo da necessidade de serem acrescentados mais indivíduos a eles, para que sejam representativos, seguindo os critérios sugeridos para serem utilizados em estratégias de conservação (Ciat, 1984).

A baixa endogamia do BAG foi confirmada pelo valor médio de f (0,082), o que permite inferir que há uma alta diversidade genética. Deve-se destacar que os acessos TC, LG, BI, CA, tem tendência à endogamia, uma vez que apresentaram os maiores valores de f . Fato de importante contribuição, pois confirma a preservação da diversidade genética dentro do BAG Mangaba. Quando se analisa a diversidade genética entre acesso e/ou populações, é sabido que o alto coeficiente de endogamia pode indicar efeitos deletérios para a espécie, devido a combinações genéticas indesejáveis (Govindaraj et al., 2015). Ao analisar a diversidade genética no BAG de coqueiro gigante por marcadores SSR, Loiola et al. (2016) também observaram baixos valores de f , que variaram entre 0,12 a 0,37, indicando alta diversidade e conservação dos acessos ali presentes. Utilizando os mesmos

marcadores SSR em populações nativas de mangabeira, Amorim et al. (2015), em outras populações naturais de mangabeira também obtiveram valores de $f < 0,5$.

A alta amplitude entre os valores de F_{st} (variando de -0,135 a 0,482) (Tabela 5) para os 22 acessos analisados, pode estar relacionada com a polinização da espécie, que é um fator que pode contribuir para a alta variabilidade genética da espécie, uma vez que os mecanismos de polinização reduzem a perda do pólen e impedem a frequência de autogamia e, conseqüentemente, favorece a polinização cruzada, contribuindo para a dinâmica genética (Darrault e Schlindwein, 2005). Os pares de indivíduos CA x PA (0,482), AB x PA (0,456) e CA x CV (0,448) foram os que apresentaram-se mais distantes geneticamente, indicando que estes acessos possuem alto nível de diversidade genética entre eles, com valores de F_{st} acima de 0,250 (Yeh, 2000). Os acessos GX x CV (-0,135), CP x GX (-0,122) e TC x AD (-0,121) são os mais próximos geneticamente, com valores de F_{st} menor que 0, indicando baixo nível de diferenciação genética (Yeh, 2000).

A diversidade genética entre os 22 acessos avaliados também foi estimada com os valores de $G_{st} = 0,147$, $R_{st} = 0,2511$, $F_{st} = 0,166$ e baixo coeficiente de endogamia ($F_{is} = 0,025$). Os índices estimados foram significativos para todos os acessos ($p < 0,01$), exceto para o F_{is} , confirmando a alta diversidade existente nos acessos (Tabela 6). Resultados semelhantes foram encontrados por Amorim et al. (2015) com valores de G_{st} , F_{st} , e R_{st} iguais a 0,14 ($p < 0,05$). Analisando os acessos quanto à procedência (Estados), os valores de G_{ST} , R_{ST} e F_{ST} confirmam essa variabilidade. De acordo com a classificação de Wright (1951), os acessos oriundos dos Estados de Pernambuco e Alagoas apresentaram baixa diversidade genética, com valores de G_{st} (0,035 a 0,027); R_{ST} (de 0,0517 a 0,0179) e F_{ST} (0,045 a 0,053), respectivamente.

As estimativas obtidas com base na AMOVA indicaram maior variância genética dentro dos acessos, e podem estar relacionada com o mecanismo de reprodução da espécie, uma vez que esta apresenta alogamia, ou seja, incompatibilidade dos mecanismos de autofecundação (Darrault e Schlindwein, 2006). Dessa forma, indivíduos que estão distantes geneticamente podem realizar cruzamentos, devido ao troca de pólen entre eles, auxiliada por insetos dispersores, o que permite a ampliação do fluxo gênico dentro da população possa ser ampliado (Martins, 1987). Avaliando as estimativas de variabilidade nos primeiros acessos a serem implantados no BGMangaba, Costa et al. (2011) obtiveram maior variância dentro dos acessos utilizando marcadores RAPD. Resultados semelhantes também foram obtidos por Amorim et al. (2015) em populações nativas de mangabeira, com os mesmos marcadores SSR.

A maioria dos acessos mais similares, conforme resultado obtidos pelos dois métodos de agrupamento (UPGMA e análise Bayesiana), não pertence ao mesmo Estado. Resultados semelhantes de similaridade existente entre acessos de locais geograficamente distantes foram obtidos por Silva et al. (2011a) e Costa et al. (2011).

5.5. CONCLUSÕES

Os acessos de mangabeira apresentam alta diversidade genética, sendo que a maior parte da variação é observada dentro dos acessos.

Os acessos pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira apresentaram amplitude e diversidade genética e as informações serão úteis para estratégias de seleção e uso em futuros programas de melhoramento da espécie, com destaque para o acessos BI que apresenta melhor estrutura genética.

O indivíduo CA5 é o mais divergente, e os pares de acessos PM5 e GX2; CN1 e CN9; GU8 e PA1; JA14 e JA15; OI8 e OI9 são os mais semelhantes.

Sugere-se que os pares de indivíduos CN1/CN9, JA14/ JA15 e OI8/ OI9 sejam duplicatas.

5.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alzate-Marin, A.L., Guidugli, M.C., Soriani, H.H., Martinez, C.A. and Mestrine, M.A. 2009. An Efficient and Rapid DNA Minipreparation Procedure Suitable for PCR/SSR and RAPD Analyses in Tropical Forest Tree Species. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 5: 1217-1224.
- Amorim, J.A.E., Mata, L.R., Ledo, A.S., Azevedo, V.C.R and Silva, A.V.C. 2015. Diversity and genetic structure of mangaba remnants in states of northeastern Brazil. *Genetics and Molecular Research*, 14: 823-833.
- Brondani, R. P. V. and Grattapaglia, D. 2001. Cost-effective method to synthesize a fluorescent internal DNA standard for automated fragment sizing. *Biotechniques*, 31: 802-810.
- CIAT. 1984. *El cultivo de meristemas para la conservación de germoplasma de yuca in vitro: Unidad audiotutorial*. Cali, 44p. (CIAT. Guia de Estudio. Serie 045C-05.03).
- Collevatti, R.G.; Olivatti, A.M.; Telles, M.P.C; Chaves, L.J. 2016. Gene flow among *Hancornia speciosa* (Apocynaceae) varieties and hybrid fitness. *Tree Genetics & Genomes*, v. 12, p.74–86.
- Costa, T.S., Silva A.V.C., Léo A.S. and Santos A.R.F. 2011. Diversidade genética de acessos do banco de germoplasma de mangaba em Sergipe. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46: 499-508.
- Cruz, C. D. Programa Genes versão 2007.0.0 Aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Biologia Geral, 2007. Disponível em: <<http://www.ufv.br/dbg/genes/gdown1.htm>>. [Acessado 10 Dezembro 2016].
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, v.12: 13-15.
- Darrault, R.O. and Schlindwein, C. 2006. Polinização. In: A cultura da mangabeira (Silva Junior, J.F. and Ledo, A.S.). Embrapa Tabuleiros Costeiros, 43-56. Sergipe, BRA.
- Excoffier, L., Laval, G. and Schneider, S. 2005. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1: 47–50.
- Evanno, G., Regnaut, S. and Goudet, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14: 2611–2620.
- Galili, T. 2015. *Extending R's Dendrogram Functionality*. R package version 1.3.0.
- Goodman, S.J. 1997. R_{ST}Calc: a collection of computer program for calculating estimates of genetic differentiation from microsatellite and determining their significance. *Molecular Ecology*, 6: 881-885.
- Govindaraj, M., Vetriventhan, M. and Srinivasan, M. 2015. Importance of Genetic Diversity Assessment in Crop Plants and Its Recent Advances: An Overview of Its Analytical Perspectives. *Genetics Research International*, 2015: 1-14.
- Goudet, J. 1996. FSTAT A computer program to calculate F-statistics. Version 1.2. *Journal of Heredity*, 86: 485–486.
- Goudet, J. 2001. Fstat, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. Version 2.9.3. Website <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>.

Jimenez, H. J., Martins, L.S.S., Montarroyos, A.V.V., Silva Junior, J.F., Alzate-Marin, A.L. and Moraes Filho, R.M. 2015. Genetic diversity of the Neotropical tree *Hancornia speciosa* Gomes in natural populations in Northeastern Brazil. *Genetics and Molecular Research*, 14: 17749-17757.

Kalinowski, S.T. 2004. HP-rare 1.0: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. *Molecular Ecology Notes*, 5: 187-189.

Kassambara, A. and Mundt, 2005. F. factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses. R package version 1.0.3.9.

Kruskal, J.B. 1964. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. *Psychometrika*, 29: 1-27.

Lederman, I.E., Silva Junior, J.F., Bezerra, J.E.F. and Espindola, A.C.M. 2000. Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes). Jaboticabal: Funep. 35p.

Lewis, P.O. and Zaykin, D. 2001. Genetic Data Analysis: computer program for the analysis of allelic data, version 1.0. Website <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>. [Acessado 20 agosto 2016].

Lima, J.P., Azevedo, L; Souza, N.J, Nunes, E.E. and Vilas Boas, E.V.B. 2015. First evaluation of the antimutagenic effect of mangaba fruit in vivo and its phenolic profile identification. *Food Research International*, 75, 216–224.

Loiola, C.M., Azevedo, A.O.N., Diniz, L.E.C., Aragão, W.M., Azevedo, C.D.O., Santos, P.H.A.D., Ramos, H.C.C., Pereira, M.G. and Ramos, S.R.R. 2016. Genetic relationships among tall coconut palm (*Cocos nucifera* L.) accessions of the international coconut genebank for Latin America and the Caribbean (ICG-LAC), evaluated using microsatellite markers (SSRs). *PLoS ONE* 11:1-11.

Martins, F.R. 1987. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação *in situ*. IPEF, Piracicaba, v.35, p.71–7.

Moraes, T.D.M., Rodrigues, C.M., Kushima, H., Bauab, T.M., Villegas, W., Pellizzon, C.H., Brito, A.R.M.S., and Hiruma-Lima, C.A. 2008. *Hancornia speciosa*: Indications of gastroprotective, healing and anti-*Helicobacter pylori* actions. *Journal of Ethnopharmacology*, 120, 161–168.

Moura, N.F., Venkovsk, Y R. and Naves, R.V. 2011. Genetic structure of mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) populations in the cerrado region of central Brazil. *Bioscience Journal*, 27: 473-481.

Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70: 3321–3323.

Prasanth, V.P. and Chandra, S. 2006. ALS-Binary: AC Program for converting allele size in microsatellite markers to 0-1 (Binary Data). Biometrics. ICRISAT, Patancheru. <http://www.icrisat.org/bt-software-d-als.htm>.

Pritchard, J., Stephens and M., Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945–959.

- R Development Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing
- Rodrigues, A.J., Yamaguishi, A.T., Chaves, L.J., Coelho, A.S., Lima, J.S. and Telles, M.P. 2015. Development of microsatellite markers for *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae). *Genetics and Molecular Research*, 14: 7274-7278.
- Rufino, M.S.M., Alves, R.E., Pérez-Jiménez, J. Saura Calixto, F., Brito, E.S. and Mancini-Filho, J. 2010. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-tradicional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 121, 996-1002.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Silva, A. V. C.; Amorim, J. A. E.; Melo, M.F.V.; Ledo, A. S.; Rabbani, A. R. C. 2017. Genetic Diversity of Remaining Populations of Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) in Restingas of Brazil. *Journal of Agricultural Science*, 9:46-52.
- Silva, A.V.C., Rabbani, A.R.C., Sena-Filho, J.G. and Almeida C.S. 2012. Genetic diversity analysis of mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes), an exotic Brazilian tropical species. *Tropical Subtropical. Agroecosystems*, 15: 217-225.
- Silva, A.V.C., Santos, A.R.F., Wickert, E., Silva Junior, J.F. and Costa, T.S. 2011. Divergência genética entre acessos de mangabeira. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 6: 572-578a.
- Silva, T.F. da, Coelho MRR, Vollú RE, Gourlat FRV, Alviano DS, Alviano CS, Seldin L. 2011. Bacterial community associate with the trunk látex of *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae) grow in the northeast of Brazil. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 99: 523-532b.
- Soares, A.N.R., Vitória, M.F., Nascimento, A.L.S., Lédo, A.S., Rabbani, A.R. C. and Silva, A.V.C. 2016. Genetic diversity in natural populations of mangaba in Sergipe, the largest producer State in Brazil. *Genetics and Molecular Research*, 15: 1-12.
- Souza, I.P., Araujo, R.B. and Rodrigues, A.J.L. *Estudo da Estrutura Genética de Populações Naturais de Hancornia speciosa Gomes (Apocynaceae), a Partir de Diferentes Parâmetros Biométricos*. **Anais** do VIII Seminário de Iniciação Científica; V Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação da UEG, Goiânia. Available at [http://www.prp.ueg.br/sic2010/apresentacao/trabalhos/pdf/biologicas/seminario/estudo_da_estrutura_genetica.pdf]. 2010.
- Weir, B.S. and Hill, W.G. 2002. Estimating *F*-statistics. *Annual Review of Genetics*, 36: 721–750.
- Weir, B.S. and Cockerham, C.C. 1984. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358–1370.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 15: 323–354.
- Yeh, F.C. 2000. Population genetics. In: *Forest conservation genetics: principles and practice*. A. Young, D. Boshier & T. Boyle (eds.). 21-37. Collingwood: CSIRO Publishing.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A caracterização de acessos de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) foi realizada com base em descritores morfológicos, físico-químicos e marcadores moleculares. Todos os descritores mostraram-se adequados em avaliar a variabilidade existente. Os frutos possuem características de qualidade para consumo *in natura* e industrialização em todos os acessos avaliados. Os descritores físico-químicos associados a análises químicas, como capacidade antioxidantes e polifenóis totais irão fornecer importantes informações para seleção, manejo e uso dos acessos.

Dos 21 descritores morfológicos e físico-químicos utilizados 11 se destacaram por permitir melhor caracterização da diversidade existente entre os acessos do BGMangaba – diâmetro do fruto (DFR), massa do fruto (MFR), massa da semente (MSE), número de sementes (NS), diâmetro do caule (DAC), diâmetro da copa (DC), comprimento da copa (L), altura da planta (H), potencial hidrogeniônico (pH), teor de sólidos solúveis (SS) e vitamina C (VitC).

A proposta de descritores será utilizada para a elaboração do ‘Manual de descritores mínimos para mangaba’, a ser publicado pela FAO/Biodiversity.

A quantificação da divergência genética, com base nos marcadores moleculares, agrupou os acessos e permitiu a formação de pelo menos, dois grandes grupos.

A combinação dos descritores utilizados nesse estudo favorece a identificação de indivíduos mais divergentes e com características de interesse. O germoplasma avaliado possui diversidade entre e dentro dos acessos. Os resultados irão colaborar nas estratégias de conservação do BGMangaba e em futuros programas de melhoramento.

ANEXOS

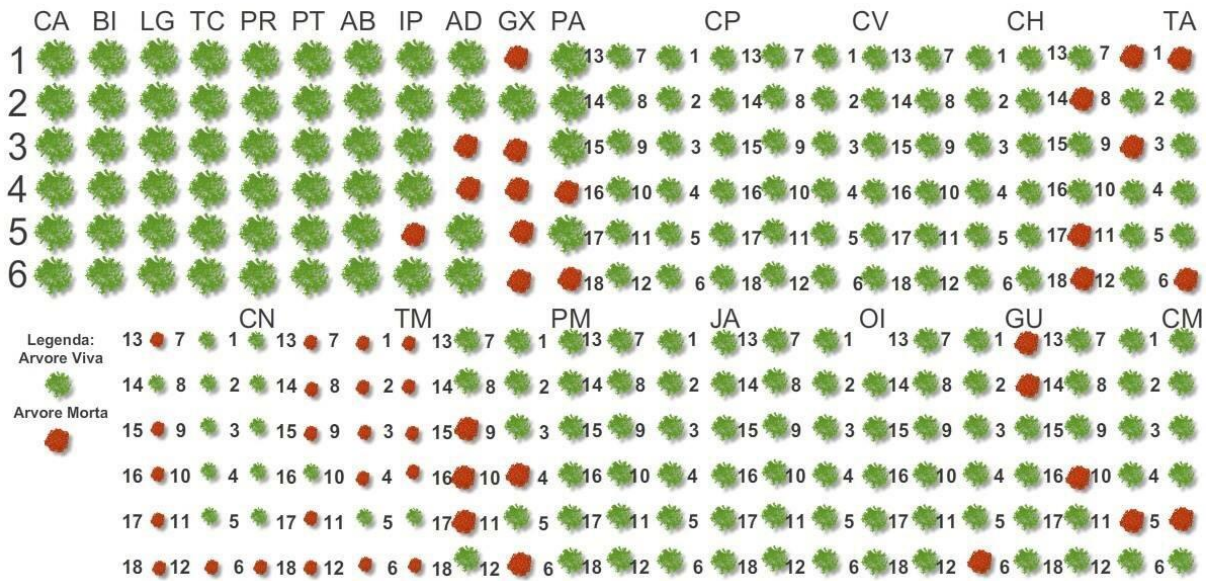


Figura 1A. Disposição esquemática do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros, no Campo Experimental de Itaporanga, no município de Itaporanga d'Ajuda.

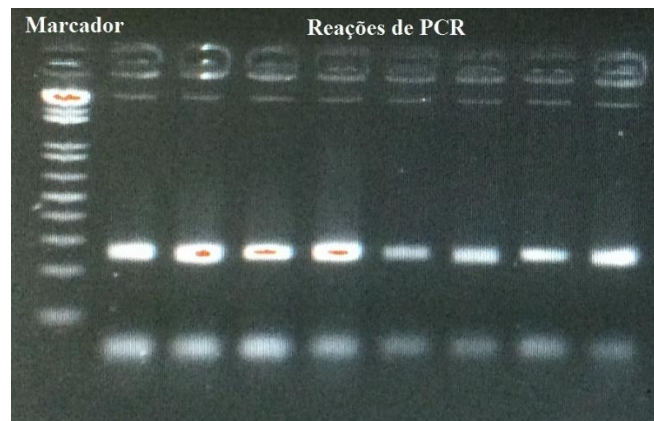


Figura 2A. Amplificação de locus microssatélites em gel de agarose.

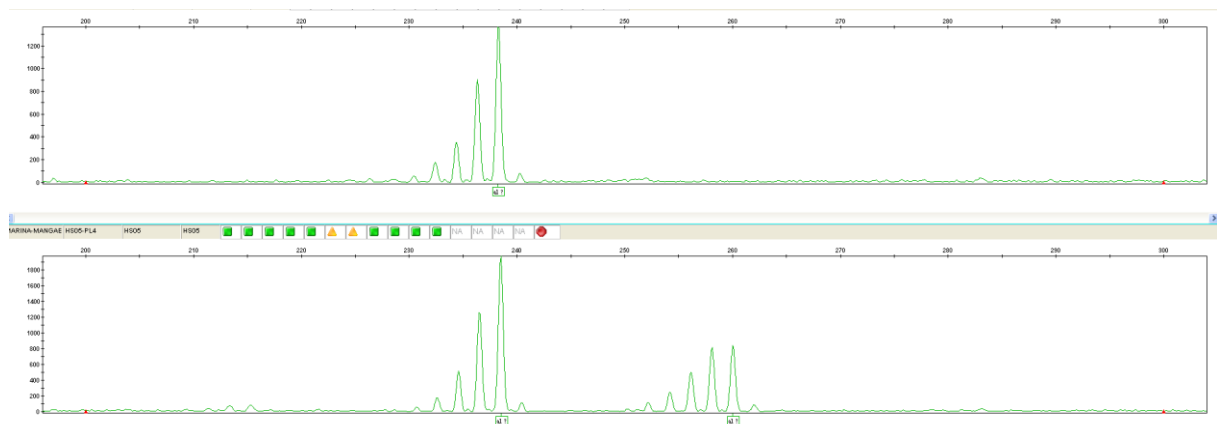


Figura 3A. Genotipagem de indivíduo homozigoto e heterozigoto para o loco sob análise com o uso do programa GeneMapp.