

**Universidade Federal do Piauí**

**Diversidade genética em acessos de mangaba do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte**

**Gizele de Andrade Luz**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Piauí como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento para obtenção do título de “mestre”.

**Teresina  
2016**

**Gizele de Andrade Luz**  
**Licenciada em Ciências Biológicas**

**Diversidade genética em acessos de mangaba do Banco de Germoplasma da  
Embrapa Meio-Norte**

**Orientador:**  
**Dr. Paulo Sarmanho da Costa Lima**  
**Coorientadores:**  
**Dr. Sérgio Emílio dos Santos Valente**  
**Dra. Maria Clideana Cabral Maia**

**Dissertação apresentada à Universidade  
Federal do Piauí como parte das exigências do  
Programa de Pós-graduação em Genética e  
Melhoramento para obtenção do título  
“mestre”.**

**Teresina**  
**2016**

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias  
Serviço de Processamento Técnico

**L979d** Luz, Gizele de Andrade  
Diversidade genética em acessos de mangaba do banco de germoplasma da Embrapa Meio-Norte. / Gizele de Andrade Luz 2016.  
56f.: il.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2016  
Orientação: Prof. Dr. Paulo Sarmanho da Costa Lima

1 . Apocynaceae 2.Caracterização de frutos nativos 3.Estrutura genética 4.*Hancornia speciosa* 5.Marcadores ISSR 6.Variabilidade genética I.Título

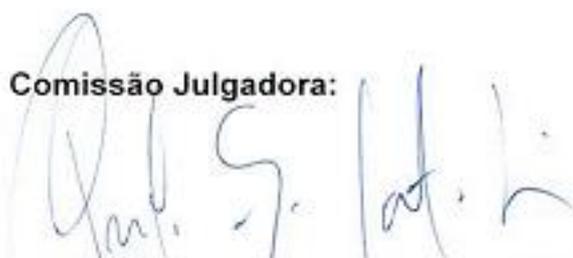
**CDD 583.72**

Diversidade genética em de mangaba do Banco de germoplasma da Embrapa  
Meio-Norte

Gizele de Andrade Luz  
Licenciada em Ciências Biológicas

Aprovada em 13/07/2016

Comissão Julgadora:



---

Dr. Paulo Sarmanho da Costa Lima – Embrapa Meio-norte  
(Orientador)



---

Prof. Dr. Sérgio Emílio dos Santos Valente – CCN/UFPI



---

Prof. Dr. Leonardo Castelo Branco Carvalho – CCA/UFPI



---

Profa. Dra. Francielle Aline Martins – UESPI/CAMPUS TORQUATO NETO

*A minha mãe Francisca e aos meus irmãos Francisco,  
Franciel e Pedro por todo o carinho e amor*

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

À Deus por todas as bênçãos e conquistas dispensados a minha vida.

À Universidade Federal do Piauí pela oportunidade de realização do curso.

À Embrapa pela disponibilização da infraestrutura para a realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

À toda minha família, amigos e bioamigas por todo o apoio, carinho e motivação.

À minha mãe, Francisca, por todo o amor, apoio, carinho, dedicação e não medir esforços para a concretização de mais esse objetivo.

Aos meus irmãos, Francisco, Franciel e Pedro, pelo companheirismo e cuidado.

Ao Dr. Paulo Sarmanho da Costa Lima pela orientação, conselhos, ensinamentos, paciência e confiança.

À todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento pelos ensinamentos transmitidos.

Ao Dr. Sérgio Emílio dos Santos Valente e à Dr. Maria Clideana Cabral Maia pela compreensão, atenção e coorientação.

À Dra. Ângela Celis de Almeida Lopes e à Dra. Regina Lucia Ferreira Gomes pelo carinho e acolhimento no PPGM.

Ao Dr. Jaime Martínez Castillo (CICY-México) e ao Doutorando José Ribamar Assunção Filho pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao Dr. Fábio Barros Britto pela colaboração na melhoria deste estudo.

Ao Dr. Adalberto Socorro da Silva pelos ensinamentos e orientação no estágio à docência.

Ao Diego Sávio Vasconcelos de Oliveira pela colaboração com as análises físicas e físico-químicas dos frutos.

Aos meus amigos de turma Laíse da Silva Passos, Ubirajara Santana Assunção e Jesuíno da Silva Costa Martins pelo companheirismo e ajuda.

À Kelly Pires de Oliveira e ao Jailson de Araújo Santos pela amizade, companheirismo e por toda a ajuda na realização deste trabalho.

Ao pessoal do Laboratório de Biologia Molecular, Talita Câmara, Leonardo Furtado, Michelli Ferreira, Isis Gomes, Geice Ribeiro, Elisa Paiva, Sulimary Gomes, Artemisa Borges, Jéssica Viana, Maria Fernanda da Costa Gomes, pelo incentivo e ajuda.

Enfim, obrigada a todos que participaram direta ou indiretamente de mais essa conquista.

*“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu.”*

*Eclesiaste 3:1*

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| RESUMO.....   | 9  |
| ABSTRACT .....  | 10 |
| LISTA DE FIGURAS .....  | 11 |
| LISTA DE TABELAS .....  | 12 |
| 1 INTRODUÇÃO .....  | 13 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA .....   | 14 |
| 2.1 Classificação botânica .....  | 14 |
| 2.1.2 Importância econômica .....   | 15 |
| 2.2 Conservação dos recursos genéticos e diversidade genética .....             | 17 |
| 2.3 Caracterização física e físico-química dos frutos .....                     | 18 |
| 2.4 Marcadores moleculares .....  | 19 |
| 2.4.1 Marcadores ISSR.....  | 21 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS.....   | 23 |
| 3.1 Caracterização física e físico-química dos frutos .....                     | 23 |
| 3.1.1 Material vegetal.....   | 23 |
| 3.1.2 Características físicas e físico-químicas dos frutos avaliadas.....       | 23 |
| 3.1.3 Análise dos dados.....  | 24 |
| 3.2 Caracterização molecular .....  | 24 |
| 3.2.1 Material vegetal.....   | 24 |
| 3.2.2 Extração e quantificação do DNA .....                                     | 25 |
| 3.2.3 Reações de amplificação do DNA.....                                       | 25 |
| 3.2.4 Análise estatística .....   | 26 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....   | 27 |
| 4.1 Caracterização física e físico-química dos frutos .....                     | 27 |
| 4.2 Caracterização molecular .....  | 34 |
| 4.2.1 Similaridade genética .....   | 34 |
| 4.2.2 Diversidade genética, estrutura e diferenciação entre as populações ..... | 38 |
| 5 CONCLUSÕES .....  | 41 |
| 6 REFERÊNCIAS.....  | 42 |
| ANEXOS .....  | 53 |

## RESUMO

LUZ, G. A. **Diversidade genética em acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte**. 56p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento), UFPI, Teresina, 2016.

A mangabeira é uma frutífera nativa do Brasil que tem se destacado pelo potencial de exploração de seus frutos. Essa espécie está em processo de erosão genética ressaltando-se, desse modo, a importância do conhecimento da diversidade genética existente para subsidiar programas de conservação e melhoramento genético. Desta forma, este estudo objetivou avaliar a diversidade genética dos acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte por meio de marcadores ISSR e caracterização física e físico-química dos frutos. Na caracterização dos frutos foram avaliadas oito características físicas e quatro físico-químicas em 14 acessos, sendo 13 oriundos da Paraíba e um do Piauí. No dendrograma, formaram-se três grupos. Os dois primeiros componentes principais retiveram 71,55% da variação. Dentre os acessos, destaca-se o acesso M1 pelas características físico-químicas e rendimento de polpa e o acesso M3 pelas características físicas dos frutos. Na análise molecular foram caracterizados 29 acessos do Brasil, sendo um de Sergipe, um da Bahia, três do Distrito Federal, 11 do Piauí e 13 da Paraíba. Com as amplificações dos 11 iniciadores ISSR obteve-se 166 marcadores dos quais 120 foram polimórficos. O número de locos amplificados variou entre quatro (UBC 813) e 25 (UBC 826) com média de 15,09 bandas por iniciador. O coeficiente de similaridade variou de 0,57 a 0,94. A análise do dendrograma permitiu a identificação de sete grupos. A diversidade genética de Nei e o índice de Shannon variaram, respectivamente, de 0,1505 a 0,2372 e de 0,2202 a 0,3430. A AMOVA indicou que 69,66% da variabilidade genética encontra-se dentro das populações e as mesmas apresentam uma elevada diferenciação genética ( $\Phi_{ST} = 0,30340$ ). As populações do Piauí e Distrito Federal foram alocadas em um mesmo grupo genético, enquanto a população da Paraíba constituiu um grupo genético distinto, sendo que houve fluxo gênico entre os mesmos. Este estudo demonstra a elevada diferenciação genética entre as populações de mangabeira estudadas. Assim, a amostragem de muitas populações é importante para a eficiência dos programas de melhoramento genético e conservação da mangabeira.

**Palavras-chave:** Apocynaceae, caracterização de frutos nativos, estrutura genética, *Hancornia speciosa*, marcadores ISSR, variabilidade genética

## ABSTRACT

LUZ, G. A. **Genetic diversity of mangaba accessions from the germplasm bank of Embrapa Meio-Norte**. 56p. Dissertation (Master of Genetics and Breeding), UFPI, Teresina, 2016.

The mangabeira is a native fruit tree of Brazil that has been distinguished due the exploration potential of its fruits. This species is under the effect of genetic erosion, which highlights, therefore, the importance of the knowledge about the genetic diversity to support conservation and breeding programs. Thus, this study aimed to evaluate the genetic diversity of mangabeira accessions from the germplasm bank of Embrapa Meio-Norte by ISSR markers, physical characterization and physicochemical analysis of the fruits. The fruit characterization was based on eight physical variables and four physicochemical variables of 14 accessions, including 13 from Paraíba and one from Piauí. In the dendrogram analysis, it was observed three groups. The first two principal components retained 71.55% of the variation. Among the accessions, the access M1 stands out from the others by its physicochemical characteristics and pulp yield of its fruits, while the access M3 by the physical characteristics of its fruits. In the molecular analysis, 29 accessions were characterized, including one access from Bahia, one from Sergipe, three from Distrito Federal, 11 from Piauí, and 13 from Paraíba. The amplifications of 11 ISSR primers generated a total of 166 markers, of which 120 were polymorphic. The number of amplified loci ranged from 4 (UBC 813) to 25 (UBC 826) with an average of 15.09 bands per primer. The similarity coefficient ranged from 0.57 to 0.94. The dendrogram analysis allowed the identification of seven groups. Nei's genetic diversity and Shannon index ranged from 0.1505 to 0.2372 and from 0.2202 to 0.3430, respectively. The AMOVA indicated that 69.66% of the genetic variability is within the populations, and they present high genetic differentiation ( $\Phi_{ST} = 0.30340$ ). The populations of Piauí and Distrito Federal were allocated in the same genetic group, while the population of Paraíba was allocated in a distinct genetic group. It was observed gene flow between the populations. This study demonstrates the high genetic differentiation among the mangabeira populations studied. Thus, the sampling of a higher number of populations is important for the efficiency of breeding and conservation programs of mangabeira.

**Keywords:** Apocynaceae, characterization of native fruits, genetic structure, *Hancornia speciosa*, ISSR markers, genetic variability

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Gráfico biplot bidimensional de dispersão dos 14 acessos de mangabeira provenientes do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte a partir dos dois primeiros componentes principais.....32
- Figura 2 - Dendrograma gerado pelo método UPGMA, baseado na distância euclidiana média obtida a partir de 12 características físicas e físico-químicas dos frutos, mostrando as relações genéticas entre os 14 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte. ....34
- Figura 3 - Gel virtual gerado a partir de eletroforese capilar mostrando o perfil de bandas obtido pela amplificação do DNA de 11 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte com o iniciador UBC 857. ....35
- Figura 4 - Dendrograma gerado pelo método UPGMA, baseado na similaridade de Jaccard, mostrando as relações genéticas entre os 29 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte, obtido a partir de 11 iniciadores ISSR que geraram 166 locos dos quais 120 foram polimórficos.....37
- Figura 5 - K=2 estimado para as três populações de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte segundo a metodologia de Evano, Regnaut e Goudet (2005). ....40
- Figura 6 - Três populações de mangabeira (Paraíba, Distrito Federal e Piauí) provenientes do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte alocadas em dois grupos genéticos distintos.....40

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1 - Origem dos 14 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte utilizados na caracterização física e físico-química dos frutos. ....   | 23 |
| Tabela 2 - Origem dos 29 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte utilizados na caracterização molecular. ....  | 24 |
| Tabela 3 - Característica dos iniciadores ISSR selecionados para a amplificação do DNA de 29 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte.....  | 25 |
| Tabela 4 - Médias das variáveis físicas e químicas dos frutos avaliadas em 14 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma de Fruteiras Nativas da Embrapa Meio-Norte, Teresina-PI. ....  | 28 |
| Tabela 5 - Estimativa dos autovalores, porcentagem da variância retida pelos dois primeiros componentes principais e contribuição relativa para variância de cada característica física e físico-química dos frutos de 14 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte... | 31 |
| Tabela 6 - Contribuição relativa das características físicas e físico-químicas dos frutos para a divergência genética entre os 14 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte estimada pelo método de Singh (1981).....  | 32 |
| Tabela 7 - Agrupamento de 14 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte pelo método de otimização de Tocher, baseado na distância euclidiana média. ....  | 33 |
| Tabela 8 - Bandas geradas pelos 11 marcadores ISSR utilizados para amplificar o DNA de 29 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte.....   | 34 |
| Tabela 9 - Parâmetros de diversidade genética, diferenciação e fluxo gênico obtidos para três populações de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte. ....   | 38 |
| Tabela 10 - Análise de variância molecular mostrando a variabilidade genética encontrada entre e dentro das populações de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte. ....   | 39 |

## 1 INTRODUÇÃO

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) é uma fruteira arbórea nativa do Brasil da família Apocynaceae que se destaca pelo potencial de exploração de seus frutos. A mangaba possui excelente sabor e pode ser consumida *in natura* ou processada, entre outros, na forma de doces, licores, sucos e sorvetes, os quais têm despertado o interesse de consumidores e agroindústrias (GANGA; CHAVES; NAVES, 2009).

Apesar do potencial econômico, a exploração da mangabeira é realizada principalmente de forma extrativista (SOARES et al., 2015). Adicionalmente, a mangabeira é uma espécie em domesticação que está em processo de erosão genética devido à expansão imobiliária e intensificação da atividade agrícola em áreas de sua ocorrência natural. Assim, ressalta-se a importância do desenvolvimento de estratégias de conservação para a mangabeira (SÁ; LÉDO; LÉDO, 2011).

Nos processos de conservação, domesticação e melhoramento genético de uma espécie, uma etapa indispensável é o conhecimento da diversidade genética existente (COSTA et al., 2011). O conhecimento dessa diversidade pode indicar as melhores formas de utilização dos recursos genéticos, fornecendo genitores promissores para cruzamentos que proporcionem a obtenção de híbridos com características superiores, além de permitir a identificação de duplicatas em bancos de germoplasma (OLIVEIRA et al., 2014).

A variação genética entre indivíduos pode ser acessada por marcadores fenotípicos e moleculares. A integração desses dois métodos contribui para a eficiência de um programa de conservação ou melhoramento de uma espécie nativa, como a mangabeira (CHAVES, 2006).

Portanto, este estudo teve como objetivo avaliar a diversidade genética dos acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte por meio de marcadores ISSR e caracterização física e físico-química dos frutos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Classificação botânica

*H. speciosa*, conhecida popularmente como mangabeira, é uma frutadeira tropical nativa do Brasil encontrada em todas as regiões do país na Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Amazônia (CAMPOS FILHO; SARTORELLI, 2015). No Nordeste, é abundante em solos arenosos da faixa litorânea (FERREIRA et al., 2013).

A mangabeira possui seis variedades botânicas que se diferenciam, sobretudo, por características morfológicas relacionadas à flor e folha: *H. speciosa* var. *cuyabenses*, *H. speciosa* var. *gardneri*, *H. speciosa* var. *lundii*, *H. speciosa* var. *maximiliani*, *H. speciosa* var. *pubescens* e *H. speciosa* var. *speciosa*. Todas as variedades predominam nas regiões Centro-Oeste e Sudeste, exceto a variedade *speciosa* que é abundante nas regiões Nordeste e Norte (LÉDO et al., 2015).

A mangabeira é uma árvore que pode atingir até 15 m. Possui copa irregular, tronco tortuoso com muitos ramos, os quais quando jovens são lisos e avermelhados. As flores são brancas, perfumadas, hermafroditas, sendo a inflorescência em dicásio composta por até cinco flores em forma de campânula, podendo ocorrer também flores isoladas (SILVA JUNIOR; LÉDO, 2006).

As folhas são pecioladas, coriáceas, opostas, simples. O fruto em formato arredondado ou elipsoide contém geralmente de duas a 15 sementes rugosas, achatadas e castanho-claras. A mangaba possui a casca amarela com estrias ou manchas vermelhas, polpa viscosa, mole, doce e ácida (EPSTEIN, 2004; SOARES et al., 2006).

A mangabeira é uma planta de clima tropical que vegeta bem em áreas com alta insolação e precipitação pluviométrica variando de 750 a 1600 mm anuais. É uma espécie que suporta períodos de déficit hídrico e apresenta melhor desenvolvimento vegetativo em temperaturas elevadas e menor umidade relativa do ar, sendo a temperatura média ideal para seu cultivo em torno de 25°C (FERREIRA; MARINHO, 2007; VIEIRA NETO et al., 2002).

A floração da mangabeira é de agosto a novembro, mas dependendo da região pode haver a produção de frutos o ano inteiro devido a flores temporãs. Porém a produção efetua-se geralmente de outubro a abril, sendo a floração e frutificação influenciadas pela época do ano, local e diferenças entre plantas de uma mesma região (LIMA; SCARIOT, 2010).

No litoral nordestino, a mangabeira floresce e frutifica duas vezes ao ano, uma no verão e outra no inverno, respectivamente, nos meses de dezembro a abril e de maio a julho. No cerrado, frequentemente ocorre uma safra por ano nos meses de outubro a novembro, já em Minas Gerais a floração é de setembro a novembro e a frutificação de dezembro a janeiro (SILVA JÚNIOR; LÉDO, 2011).

No cerrado de Mato Grosso do Sul, a floração é de agosto a outubro, entretanto, a frutificação acontece durante todo o ano devido ao florescimento fora de época. No pantanal de Mato Grosso, o florescimento e a frutificação ocorrem na estação chuvosa. No nordeste, o ciclo reprodutivo da mangabeira dura aproximadamente 100 dias desde a abertura da flor ao amadurecimento do fruto (SILVA JÚNIOR; LÉDO, 2011).

As sementes da mangabeira são recalcitrantes (BASTOS et al., 2007) e a semeadura deve ser realizada até quatro dias após a sua retirada dos frutos para obter cerca de 90% de germinação (VIERA NETO, 2001), pois em condição ambiente perdem rapidamente a viabilidade (BARROS et al., 2010).

A mangabeira é uma planta alógama e autoincompatível (PINTO; OLIVEIRA; SCHLINDWEIN, 2008). O sistema de polinização de *H. speciosa* foi estudado por Darrault e Schlindwein (2005), os quais por meio de três tratamentos (polinização cruzada manual, autopolinização manual e autopolinização espontânea) constataram que todos os frutos provenientes de autopolinização espontânea foram abortados e apenas um proveniente de autopolinização manual se desenvolveu. Além disso, verificaram que 3% e 12% dos óvulos das flores submetidas, respectivamente, à polinização espontânea e polinização cruzada manual foram fertilizados, enquanto para as autopolinizadas a taxa foi de 1%. Assim, o sucesso da fecundação e a produção de frutos na espécie são dependentes de visitantes florais, como abelhas e mariposas, sendo que uma maior taxa de frutificação, frutos com sementes maiores e mais numerosas são conseguidos com o aumento da frequência dos polinizadores (DARRAULT; SCHLINDWEIN, 2006).

### **2.1.2 Importância econômica**

O consumo de frutos tropicais tem crescido no mercado interno e externo em consequência do valor nutricional e benefícios proporcionados para a saúde (RUFINO et al., 2010). O Brasil é detentor de uma grande biodiversidade (OLIVEIRA et al., 2012). Entretanto, muitas espécies de fruteiras nativas que apresentam características organolépticas únicas, alto valor nutricional e potencial para

agroindústrias são pouco exploradas, como a mangabeira (ALMEIDA et al., 2011; CARDOSO et al., 2011).

A palavra mangaba é de origem indígena e significa “coisa boa de comer”. Durante a segunda guerra mundial, o látex da mangabeira foi extremamente explorado para a produção de borracha (OLIVEIRA, 2011). O látex é popularmente utilizado no tratamento de doenças, como gastrite e inflamação (ALMEIDA et al., 2014). Estudos recentes têm demonstrado a propriedade anti-inflamatória do látex (MARINHO et al., 2011) e o efeito anti-hipertensivo do extrato das folhas (SILVA, G. et al., 2011).

A mangabeira destaca-se pelo potencial econômico de seus frutos, a mangaba, a qual é apreciada principalmente pelos consumidores do Nordeste e Centro-Oeste do Brasil pelo seu sabor agradável, alto valor nutricional e características organolépticas (MARTINS et al., 2012).

A mangaba pode ser consumida *in natura* ou utilizada na produção de sucos, sorvetes, compotas, geleias, licores e doces (GANGA et al., 2010; SILVA JÚNIOR et al., 2007). É uma excelente fonte de folato, vitamina A, proteína, fósforo, cálcio, possui níveis elevados de ácido ascórbico e alta atividade antioxidante (CARDOSO et al., 2014; LIMA et al., 2015a; SOARES et al., 2015).

Em 2014, foram produzidas 686 toneladas (t) de mangaba no Brasil. O Nordeste concentrou a maior parte da produção com 680 toneladas, sendo o estado de Sergipe o maior produtor (353 t), seguido da Paraíba (93 t), Bahia (89 t), Rio Grande do Norte (71 t), Ceará (38 t), Alagoas (34 t) e Maranhão (2 t). Na região Sudeste, a produção foi de 1 t em Minas Gerais, enquanto no Centro-Oeste 5 t foram produzidas em Goiás (IBGE, 2014).

Apesar do potencial econômico, a exploração da mangabeira é quase essencialmente extrativista (SILVA, A. et al., 2011; SOARES et al., 2015) e o volume de frutas disponível no mercado não atende a demanda, impossibilitando o processamento da fruta em grande escala (BESSA et al., 2012). Além disso, muitas populações naturais dessa espécie estão em processo de erosão genética devido a atividade agrícola e especulação imobiliária. Assim, ressalta-se a necessidade do desenvolvimento de estratégias para a conservação e incorporação dessa espécie em cultivo comercial (GANGA et al., 2010; SÁ; LÉDO; LÉDO, 2011).

## 2.2 Conservação dos recursos genéticos e diversidade genética

Os recursos genéticos podem ser definidos como parte da biodiversidade com uso atual ou futuro (GOEDERT, 2007), sendo o fator fundamental na adaptabilidade e sustentabilidade dos sistemas de produção (COLLETTE et al., 2015).

Os recursos genéticos podem ser perdidos, entre outros, pela vulnerabilidade genética, deriva genética, erosão genética ou destruição de habitat. A diversidade genética é um elemento essencial para conservar a habilidade natural das espécies de responder aos estresses bióticos e abióticos. Desta forma, a perda de diversidade minimizará possivelmente a aptidão de resposta das espécies a mudanças climáticas e poderá levar a eliminação de genes e combinações gênicas importantes para a adaptação dos organismos (CRUZ; SALGADO; BHERING, 2013).

Assim, é de extrema importância a conservação dos recursos genéticos, uma vez que os mesmos são fontes de variabilidade para os programas de melhoramento, os quais por meio da manipulação de genes buscam atender as necessidades de agricultores e do mercado pela geração de genótipos mais produtivos e adaptados (NASS et al., 2012).

A conservação dos recursos fitogenéticos pode ser executada *in situ*, *ex situ* ou pela combinação de ambos os métodos (BAENA; JARAMILO; MONTOYA, 2003). A conservação *in situ* proporciona que as espécies continuem com o processo evolutivo, sendo efetivada em áreas protegidas, por exemplo, parques nacionais e reservas ambientais. A conservação *ex situ* é realizada principalmente em bancos de germoplasma na qual se evidencia o armazenamento de material de ancestrais de cultivares modernas que além de ser fonte de variação para o melhoramento genético, estão sob risco de extinção (RAMALHO et al., 2012).

O conhecimento da diversidade genética é de fundamental importância para a conservação e melhoramento genético de uma espécie (COSTA et al., 2011). A variabilidade genética pode ser explorada pelo melhoramento genético ao viabilizar o conhecimento de genitores mais divergentes com características morfoagronômicas de interesse para cruzamento que proporcione a obtenção de híbridos superiores com combinações gênicas favoráveis e incomuns não existentes nos genitores (CRUZ; FERREIRA; PESSONI, 2011; OLIVEIRA et al., 2014). Desta forma, estudos de caracterização de germoplasma são indispensáveis.

No Brasil, as fontes de variabilidade genética de fruteiras tropicais presentes em coleções são limitadas e expostas à erosão genética, ressaltando-se, desse modo, a importância da conservação de fruteiras nativas e exóticas que além de apresentarem potencial econômico pouco explorado, como a mangabeira, podem contribuir com o melhoramento genético em busca de cultivares adaptadas às condições locais e que se adeque às necessidades do mercado (LUNA; RAMOS JUNIOR, 2005).

Portanto, os bancos de germoplasma são de grande importância e constituem uma fonte de variabilidade para o melhoramento genético. No entanto, para que essa variabilidade seja explorada com eficiência, é necessária a caracterização de germoplasma que pode ser efetuada por marcadores fenotípicos e moleculares (VIEIRA et al., 2008).

### **2.3 Caracterização física e físico-química dos frutos**

A caracterização de frutos *in natura* tem possibilitado o conhecimento do potencial nutricional dos mesmos despertando o interesse da comunidade científica (MATTIETTO et al., 2010). Dentre os diversos fatores que exercem influência sobre as características físicas e físico-químicas dos frutos, encontra-se a constituição genética, condições edafoclimáticas, estágio de maturação e tratamento pós-colheita (FAGUNDES; YAMANISHI, 2001).

A caracterização física e físico-química dos frutos bem como a quantificação dos compostos bioativos são importantes na determinação do valor nutricional e qualidade dos frutos (SOUZA et al., 2012). Com esses estudos, obtêm-se informações que são úteis para o acondicionamento, manuseio e programas de melhoramento genético, além de contribuir para a adoção de uma tecnologia adequada ao aproveitamento dos frutos na agroindústria (OLIVEIRA et al., 2009). Adicionalmente, permite a identificação de genótipos promissores para consumo *in natura* e processamento (OKATAN et al., 2015).

A qualidade da fruta é de extrema importância na indústria, principalmente de sucos e polpas, pois influencia na utilização de produtos sintéticos, como açúcar e acidificantes. Frutos com características químicas e físico-químicas adequadas apresentam uma redução da adição de compostos sintéticos no processamento. As características físicas e físico-químicas dos frutos são indicadores da maturação e da qualidade externa e interna dos mesmos, sendo elementos determinantes da demanda de mercado. A indústria de sucos e polpas tem preferência por frutos de

melhor aparência externa e interna na qual se pode mencionar o comprimento e largura dos frutos, peso dos frutos, número de sementes, peso das sementes, porcentagem da polpa, sólidos solúveis totais (SST), acidez titulável (ATT), pH e a relação SST/ATT (CAVALCANTE et al., 2012). Assim, esses parâmetros citados, dentre outros, são amplamente utilizados na caracterização física e físico-química dos frutos.

No setor agroindustrial brasileiro, a exploração de frutas nativas apresenta um grande potencial econômico (HANSEN et al., 2013). Dentre as frutas nativas, a mangaba destaca-se pelo sabor e valor nutritivo, podendo ser consumida *in natura* ou processada. Entretanto, para maximizar o aproveitamento dos frutos pela indústria, é necessário o conhecimento das características físicas e físico-químicas e do ponto ótimo para consumo fresco e processamento (NARAIN et al., 2006).

Portanto, a caracterização física e físico-química dos frutos torna-se importante ao demonstrar as potencialidades dos acessos quanto à produção de frutas adequadas para consumo *in natura* e industrialização, além de permitir a identificação e seleção de genótipos superiores quanto às características consideradas, sobretudo em espécies perenes (FREITAS et al., 2015).

#### **2.4 Marcadores moleculares**

O uso de marcadores moleculares tem facilitado a execução do melhoramento de culturas pela velocidade e precisão das análises genéticas (MAMMADOV et al., 2012). O estudo das variações genéticas presentes no germoplasma proporciona a obtenção de informações sobre a estrutura genética das populações e os parâmetros de diversidade que subsidiam os programas de melhoramento. Além disso, tornam-se importantes para determinar se as classificações taxonômicas baseadas em estruturas morfológicas revelam padrões de diferenciação genética (GOVINDARAJ et al., 2015).

A caracterização genética é realizada tradicionalmente a partir de marcadores morfológicos que são úteis para acessar a variabilidade genética, entretanto, têm limitações, tais como plasticidade e pouca variação genética entre indivíduos. Com o advento de técnicas moleculares abriram-se novas perspectivas para estudos genéticos (NYBOM; WEISING; ROTTER, 2014). Os marcadores moleculares revelam polimorfismos de sequências de DNA capazes de diferenciar dois ou mais indivíduos, sendo uma ferramenta de grande importância para análise da diversidade genética (FERREIRA; MORETZSOHN; BUSO, 2007).

Devido à sua abundância, facilidade de detecção e do comportamento como caracteres de herança simples e previsível, não sendo afetados pelo ambiente, os marcadores moleculares de DNA apresentam grande potencial de uso no melhoramento genético (ALZATE-MARIN et al., 2005). Eles surgem de mutações no DNA, tais como mutações de substituição, inserções, deleções, ou de erros na replicação do mesmo (GOVINDARAJ et al., 2015).

Os marcadores moleculares possuem várias aplicações, tais como na análise filogenética e diversidade genética (GROVER; SHARMA, 2014). Podem ser denominados de codominantes quando são capazes de discriminar entre homozigotos e heterozigotos ou dominantes quando não permitem essa discriminação entre homozigotos e heterozigotos. Os marcadores dominantes informam se o alelo dominante está presente ou ausente, enquanto os marcadores codominantes mostram diferenças no tamanho dos fragmentos de DNA amplificados, podendo identificar muitos alelos diferentes para um mesmo loco (COLLARD et al., 2005).

Os marcadores moleculares também podem ser divididos pelo método de análise: hibridização, PCR (*Polymerase Chain Reaction*) e sequenciamento (GROVER; SHARMA, 2014). O RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) foi o primeiro marcador desenvolvido baseado em hibridização. A técnica fundamenta-se na hibridização de uma sonda com fragmentos de DNA gerados por clivagem do mesmo pelas enzimas de restrição. RFLP é de natureza codominante, relativamente polimórfico e reprodutível, entretanto, é uma técnica laboriosa, de alto custo (AGARWAL; SHRIVASTAVA; PADH, 2008).

Os marcadores baseados em PCR compreendem, entre outros, o RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), SSR (*Simple Sequence Repeats*) e ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*). O RAPD utiliza iniciadores curtos de seqüências arbitrárias, suprimindo desta forma a necessidade do conhecimento prévio do genoma. Nesses marcadores, o polimorfismo de DNA é gerado por mutações nos sítios de anelamento do iniciador ao genoma. É uma técnica simples e de baixo custo (OMONDI et al., 2016).

O AFLP proporciona uma ampla cobertura do genoma e é uma técnica baseada na amplificação seletiva de fragmentos provenientes da clivagem do DNA por enzimas de restrição. A amplificação seletiva de fragmentos para um número

que seja possível a análise em gel é conseguida pela utilização de iniciadores que são complementares aos adaptadores, os quais são ligados a fragmentos de DNA provenientes de restrição (MBA; TOHME, 2005). Os iniciadores na reação de pré-amplificação possuem uma base adicional na extremidade 3' e na reação de amplificação seletiva, os mesmos possuem três nucleotídeos adicionais na extremidade 3', onde o primeiro deve ser igual ao utilizado na reação de pré-amplificação. AFLP é de natureza dominante, reprodutível e gera um grande número de fragmentos, sendo uma ferramenta importante em estudos genéticos, no entanto, é uma técnica trabalhosa (ARIF et al., 2010).

Os microssatélites são sequências de DNA que variam de 1 a 6 pares de bases repetidas em *tandem* (PRIYONO; PUTRANTO, 2014). Essas sequências estão presentes em grande número no genoma dos eucariotos e apresentam uma grande variação no número de repetições devido, entre outros, ao deslizamento da DNA polimerase. Os iniciadores são desenhados em regiões que flanqueiam os microssatélites, as quais são geralmente conservadas. SSRs são marcadores codominantes, reprodutíveis e altamente variáveis, entretanto, uso dessa técnica requer o conhecimento prévio do genoma (JIANG, 2013).

Os marcadores moleculares têm experimentado grandes avanços com o advento das tecnologias de sequenciamento de nova geração, as quais têm permitido o desenvolvimento de marcadores SNP (*Single nucleotide polymorphisms*) (CLEVENGER et al., 2015). Esses marcadores detectam variação em uma única base e nos últimos anos, têm ganhado espaço nas análises moleculares devido à abundância e sua capacidade de serem utilizados em plataformas de detecção em larga escala (MAMMADOV et al., 2012).

Desta forma, vários tipos de marcadores estão disponíveis para os pesquisadores, sendo considerado um marcador ideal aquele que apresenta alto polimorfismo, codominância, neutralidade, reprodutibilidade, de fácil acesso e baixo custo, entretanto, é difícil encontrar um marcador que atenda todos os requisitos (KUMAR et al., 2009). Assim, a escolha do marcador deve ser baseada naquele que mais se adequa ao objetivo do estudo e aos recursos financeiros disponíveis (SEMAGN; BJØRNSTAD; NDJIONDJOP, 2006).

#### **2.4.1 Marcadores ISSR**

ISSR são marcadores que utilizam um único iniciador para amplificar segmentos de DNA presentes entre duas regiões microssatélites idênticas (TIWARI

et al., 2015). Esses marcadores não discriminam os homozigotos de heterozigotos, entretanto, geram múltiplos fragmentos de DNA onde cada um é considerado um loco, proporcionando assim a geração de muitos locos no genoma de qualquer espécie sem a necessidade do conhecimento preliminar das sequências de DNA alvo (NG; TAN, 2015).

Os iniciadores ISSR possuem geralmente de 16 a 25 pb, os quais podem ser ancorados ou não ancorados. Iniciadores ancorados possuem um ou mais nucleotídeos na extremidade 3' ou 5', além dos motivos repetidos de DNA, propiciando o anelamento na extremidade do microssatélite. Iniciadores não ancorados consistem apenas no microssatélite e podem anelar-se em qualquer região da repetição no DNA alvo, promovendo ampliações inconsistentes a cada ciclo que interferem na reprodutibilidade dos resultados (REDDY; SARLA; SIDDIQ, 2002).

A sequência de repetição da qual é constituída o iniciador e o ancoramento do mesmo influenciam no polimorfismo e na resolução das bandas. Geralmente, iniciadores de dinucleotídeos ancorados na extremidade 3' ou 5' são mais polimórficos, sendo que o primeiro apresenta bandas mais claras que o segundo. Além disso, iniciadores com AG, CT, GA, AC, TC ou CA exibem normalmente maior polimorfismo do que os constituídos com TA ou AT que tendem ao autoanelamento (VIJAYAN, 2005).

Os ISSR são úteis em estudos filogenéticos e de diversidade genética, inclusive de espécies estreitamente relacionadas (GHORBEL et al., 2014), mapeamento gênico (QUEZADA et al., 2014) e biologia evolutiva em inúmeras espécies (JABBARZADEH et al., 2010). A técnica é de baixo custo, fácil uso e reprodutível, sendo ideal para estudo em espécies em que a informação genética não está disponível (NG; TAN, 2015).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Caracterização física e físico-química dos frutos

##### 3.1.1 Material vegetal

A caracterização física e físico-química dos frutos foi realizada em 14 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte localizado em Teresina - PI, em uma latitude sul de 5°02'05.9" e longitude oeste de 42°48'15.3" (Tabela 1).

Tabela 1 - Origem dos 14 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte utilizados na caracterização física e físico-química dos frutos.

| <b>Acesso</b> | <b>Estado</b> |
|---------------|---------------|
| M1            | Paraíba       |
| M2            | Paraíba       |
| M3            | Paraíba       |
| M4            | Paraíba       |
| M5            | Paraíba       |
| M6            | Paraíba       |
| M7            | Paraíba       |
| M8            | Paraíba       |
| M9            | Paraíba       |
| M10           | Paraíba       |
| M12           | Paraíba       |
| M13           | Paraíba       |
| M14           | Paraíba       |
| M23           | Piauí         |

##### 3.1.2 Características físicas e físico-químicas dos frutos avaliadas

Em 2014, foram coletados 10 frutos maduros escolhidos aleatoriamente de cada acesso para avaliação dos seguintes parâmetros físicos: comprimento do fruto (CF) e diâmetro do fruto (DF), aos quais foram mensurados com paquímetro digital, número de sementes (NS) por contagem manual, massa do fruto (MF), massa da polpa (MP), massa da casca (MC) e massa total das sementes (MTS) determinadas por balança graduada em gramas, e o rendimento da polpa (RP), em porcentagem, obtido por  $(MP/MF) \times 100$ .

Para a caracterização físico-química foram utilizados dados de cinco frutos, sendo analisadas as variáveis: sólidos solúveis totais (SST) determinados por refratômetro digital e expresso em °Brix, acidez total titulável (ATT) determinada por titulometria com hidróxido de sódio (NaOH) a 0,1N e solução indicadora de

fenolftaleína, sendo expresso em teor de ácido cítrico, relação SST/ATT e potencial hidrogeniônico (pH) por meio de pHmetro.

### 3.1.3 Análise dos dados

As relações entre as variáveis físicas e físico-químicas dos frutos foram estimadas pela correlação de Pearson, a qual foi testada a significância a 1% e 5% de probabilidade pelo teste t no Programa Genes v. 5.0 (CRUZ, 2013). Foram consideradas correlações fracas, moderadas e fortes quando, respectivamente,  $r \leq 4$ ,  $4 < r \leq 7$  ou  $r > 7$ .

Uma análise de componentes principais foi realizada no Programa Genes v. 5.0 (CRUZ, 2013) e um gráfico *biplo*t em plano bidimensional foi construído a partir dos dois primeiros componentes principais com o pacote bpca (FARIA; DEMÉTRIO, 2016) no programa R (R CORE TEAM, 2016).

A análise de agrupamento foi realizada pelos métodos UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) e de otimização de Tocher baseados na distância euclidiana média padronizada no Programa Genes v. 5.0 (CRUZ, 2013)

## 3.2 Caracterização molecular

### 3.2.1 Material vegetal

Foram utilizados 29 acessos de mangabeira provenientes do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte localizado em Teresina - PI, em uma latitude sul de 5°02'05.9" e longitude oeste de 42°48'15.3" (Tabela 2).

Tabela 2 - Origem dos 29 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte utilizados na caracterização molecular.

| Acesso                        | Estado  | Acesso           | Estado           |
|-------------------------------|---------|------------------|------------------|
| M1                            | Paraíba | <sup>b</sup> M15 | Distrito Federal |
| M2                            | Paraíba | <sup>b</sup> M16 | Distrito Federal |
| M3                            | Paraíba | <sup>b</sup> M17 | Distrito Federal |
| M4                            | Paraíba | M18              | Piauí            |
| M5                            | Paraíba | M19              | Piauí            |
| M6                            | Paraíba | M20              | Piauí            |
| M7                            | Paraíba | M21              | Piauí            |
| M8                            | Paraíba | M22              | Piauí            |
| M9                            | Paraíba | M23              | Piauí            |
| M10                           | Paraíba | M24              | Piauí            |
| <sup>a</sup> M10 <sup>2</sup> | Bahia   | M25              | Piauí            |
| <sup>a</sup> M12 <sup>1</sup> | Sergipe | M27              | Piauí            |
| M12                           | Paraíba | M29              | Piauí            |
| M13                           | Paraíba | M30              | Piauí            |
| M14                           | Paraíba |                  |                  |

<sup>a</sup>Acessos não incluídos na análise de estrutura genética das populações; <sup>b</sup>Variedade *pubescens*.

### 3.2.2 Extração e quantificação do DNA

Folhas jovens coletadas dos 29 acessos de mangabeira foram mantidas em sacos plásticos hermeticamente fechados contendo sílica por 16 horas. O DNA genômico foi extraído a partir de 0,02g de folhas desidratadas com o kit DNeasy (QIAGEN) de acordo com o protocolo sugerido pelo fabricante. O DNA foi submetido à eletroforese em gel de agarose (0,8%) com TBE 0,5X, corado com GelRed™ (Biotium) e fotodocumentado sob luz ultravioleta. A quantificação foi realizada comparando-se o ao DNA  $\lambda$  na concentração de 100 ng e no espectrofotômetro NanoDrop 2000 (Thermo Scientific) no qual verificou-se também a pureza das amostras.

### 3.2.3 Reações de amplificação do DNA

As reações de amplificação do DNA foram realizadas nas seguintes concentrações: 1X de tampão [20 mM Tris-HCl pH 8,4; 50 mM KCl] (Invitrogen), 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub> (Invitrogen), 1 mM de dNTP, 0,4  $\mu$ M de iniciador, 0,5 U de Taq DNA Polimerase (Invitrogen), 1  $\mu$ L de DNA (7 ng/ $\mu$ L) e água ultrapura em um volume final de 10  $\mu$ L. As reações foram conduzidas em termociclador Veriti™ 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystems) sob as seguintes condições: 1 ciclo inicial de desnaturação de 1,5 minutos a 94°C, seguido de 40 ciclos de 40 segundos a 94°C, 45 segundos com a temperatura de anelamento do respectivo iniciador, 2 minutos a 72°C e uma extensão final de 7 minutos a 72°C. Dos 30 iniciadores ISSR testados desenvolvidos pela *University British of Columbia*, 11 foram selecionados com base no polimorfismo, número e resolução das bandas (Tabela 3).

Tabela 3 - Característica dos iniciadores ISSR selecionados para a amplificação do DNA de 29 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte.

| Iniciadores | Sequência 5'-3'         | T <sub>m</sub> (°C) | T <sub>a</sub> (°C) | %GC   |
|-------------|-------------------------|---------------------|---------------------|-------|
| UBC 808     | AGA GAG AGA GAG AGA GC  | 48,8                | 54                  | 52,94 |
| UBC 813     | CTC TCT CTC TCT CTC TT  | 45,7                | 49                  | 47,06 |
| UBC 822     | TCT CTC TCT CTC TCT CA  | 47,0                | 50                  | 47,06 |
| UBC 826     | ACA CAC ACA CAC ACA CC  | 57,2                | 55                  | 52,94 |
| UBC 827     | ACA CAC ACA CAC ACA CG  | 53,0                | 52                  | 52,94 |
| UBC 834     | AGA GAG AGA GAG AGA GYT | 49,2                | 46                  | 50,00 |
| UBC 836     | AGA GAG AGA GAG AGA GYA | 48,9                | 50                  | 50,00 |
| UBC 844     | CTC TCT CTC TCT CTC TRC | 48,6                | 52                  | 55,55 |
| UBC 855     | ACA CAC ACA CAC ACA CYA | 53,1                | 57                  | 50,00 |
| UBC 857     | ACA CAC ACA CAC ACA CYG | 54,3                | 55                  | 55,55 |
| UBC 886     | VDV CTC TCT CTC TCT CT  | 48,4                | 46                  | 58,82 |

Y: C, T; R: A, G; V: A, C, G; D: A, G, T; T<sub>m</sub>: Temperatura de *melting*; T<sub>a</sub>: Temperatura de anelamento; %GC = Porcentagem de guanina e citosina.

Os produtos amplificados foram separados em eletroforese capilar com o kit DNF-915 (35-5000 pb) no Fragment Analyzer™ (Advanced Analytical Technologies) a 9 KV por 90 ou 120 minutos, a qual foi dependente do número de bandas gerado pelos iniciadores. Nas diluições das amostras, de modo a obter um volume final de 24  $\mu$ L, foram utilizados de 4 a 6  $\mu$ L do DNA amplificado de cada acesso para 18 a 20  $\mu$ L de tampão de eluição, a qual foi dependente da concentração das bandas gerada pelos iniciadores.

### 3.2.4 Análise estatística

Foi construída uma matriz para os fragmentos amplificados codificados em sistema binário, atribuindo-se (1) para presença e (0) para ausência de bandas. Com base na matriz, as similaridades genéticas entre os acessos de mangabeira foram determinadas pelo coeficiente de Jaccard e a análise de agrupamento foi realizada pelo método UPGMA. Estimou-se também o índice de confiabilidade *bootstrap* com 1000 repetições e o coeficiente de correlação cofenética ( $r$ ). Os dados foram analisados pelo programa PAST v. 3.11 (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001).

Para acessar a variação presente entre e dentro das populações, foi realizada uma análise de variância molecular (AMOVA) com o programa ARLEQUIN v. 3.5.1.2 (EXCOFFIER; LISCHER, 2010). Na avaliação da diversidade genética, estimou-se os seguintes parâmetros no programa POPGENE v. 1.32 (YEH; YANG; BOYLE, 1999): porcentagem de locos polimórficos, índice de Shannon ( $I$ ) (LEWONTIN, 1972), índice de diversidade genética de Nei ( $h$ ) (NEI, 1973), coeficiente de diferenciação genética ( $G_{ST}$ ) (NEI, 1987) e fluxo gênico ( $N_m$ ) a partir da estimativa de  $G_{ST}$  (MCDERMOTT; MCDONALD, 1993).

A estrutura populacional foi inferida no programa Structure v. 2.3.4 (PRITCHARD, STEPHENS; DONNELLY, 2000). As análises foram realizadas com o *burnin* de 100.000 e Markov Chain Monte Carlo (MCMC) com 1.000.000 de simulações, sendo realizadas 10 corridas independentes para cada valor de  $K$ , o qual foi de 1 a 8. Foi adotado o modelo de mistura com frequências alélicas correlacionadas. Determinou-se o  $K$  mais provável com base nos valores de  $\Delta K$  segundo a metodologia Evanno, Regnaut, Goudet (2005) obtidos no Structure Harvester v. 0.6.9 (EARL; VONHOLDT, 2012).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização física e físico-química dos frutos

Os acessos apresentaram variação nos parâmetros avaliados. A média do comprimento dos frutos (CF) foi 31,14 mm, sendo a maior variação obtida entre os acessos M7 (23,14 mm) e M3 (38,13 mm). Já o diâmetro dos frutos (DF) dos frutos variou de 19,75 mm (M23) a 34,97 mm (M3), sendo a média 27,84 mm (Tabela 4). Esses resultados estão de acordo com estudos anteriores realizados em mangabeiras do Nordeste brasileiro onde nos quais foram descritas as médias de 33,37 mm e 33,4 mm para o comprimento dos frutos e o diâmetro médio de 26,8 mm e 30,12 mm (ARAÚJO et al., 2009; MOURA et al., 2002).

Os parâmetros de comprimento e diâmetro são relevantes para frutos direcionados ao mercado de frutas *in natura*, pois o aspecto externo das frutas é o principal elemento que influencia na escolha dos consumidores, os quais geralmente preferem frutos grandes e mais vistosos (CAVICHIOLO; RUGGIERO; VOLPE, 2008). Nesses dois parâmetros, destacaram-se os acessos M3 e M12.

A massa dos frutos (MF) variou de 7,36 g (M7) a 28,39 g (M3), sendo a média de 16,11 g (Tabela 4). Esse resultado é semelhante às médias de 15,81 g e 17,7 g observadas para mangabeiras provenientes da Bahia e Sergipe (NASCIMENTO; CARDOSO; COCOZZA, 2014; SILVA et al., 2015). Neste parâmetro, destacaram-se os acessos M3 e M12.

A massa da casca (MC) oscilou entre 1,14 g (M7) e 4,51 g (M3), sendo a média 2,41 g. A massa da polpa apresentou a média de 9,93 g, sendo valor mínimo obtido com o acesso M7 (4,61 g) e máximo com o acesso M3 (19,83 g) (Tabela 4). Para mangabeiras de Tocantins foi encontrada a média de 10,30 g para massa de polpa, o qual é bastante similar ao relatado neste estudo (FREITAS et al., 2012). O peso da polpa e da casca são parâmetros físicos com notável relevância para a exploração comercial, especialmente, no processamento dos frutos (NASCIMENTO; CARDOSO; COCOZZA, 2014).

Como já esperado, correlação alta, positiva e significativa foi obtida entre massa da polpa e da casca (Anexo A). Assim, é difícil a seleção de genótipos que produzem frutos com pouca massa de casca e elevada massa de polpa. Desse modo, pode ser interessante a escolha de acessos que geram frutos com maior percentual de polpa. Entre os acessos, destacam-se o M1, M2, M3 e M13.

Tabela 4 - Médias das características físicas e físico-químicas dos frutos avaliadas em 14 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte.

| ACESSO | MF(g) | CF(mm) | DF(mm) | MC(g) | NS    | MTS(g) | MP(g) | RP(%) | SST(°Brix) | ATT(g) | SST/ATT | pH   |
|--------|-------|--------|--------|-------|-------|--------|-------|-------|------------|--------|---------|------|
| M1     | 14,65 | 30,10  | 27,74  | 1,66  | 9,50  | 2,43   | 10,56 | 72,67 | 21,62      | 1,020  | 21,21   | 3,15 |
| M2     | 17,32 | 33,57  | 29,07  | 1,97  | 12,80 | 3,45   | 11,91 | 68,78 | 15,38      | 1,005  | 15,31   | 3,33 |
| M3     | 28,39 | 38,13  | 34,97  | 4,51  | 13,60 | 4,05   | 19,83 | 69,66 | 16,16      | 1,037  | 15,59   | 3,18 |
| M4     | 12,57 | 32,88  | 29,95  | 2,61  | 11,00 | 3,56   | 6,40  | 50,56 | 17,82      | 1,005  | 17,74   | 3,22 |
| M5     | 12,45 | 28,39  | 26,23  | 1,84  | 7,80  | 2,38   | 8,23  | 66,40 | 18,62      | 1,004  | 18,55   | 3,49 |
| M6     | 22,23 | 34,13  | 31,66  | 2,84  | 15,20 | 7,31   | 12,08 | 53,95 | 19,20      | 1,004  | 19,13   | 3,34 |
| M7     | 7,36  | 23,14  | 20,26  | 1,14  | 6,40  | 1,61   | 4,61  | 60,48 | 18,26      | 1,023  | 17,85   | 3,38 |
| M8     | 17,40 | 31,96  | 29,71  | 2,70  | 12,70 | 4,65   | 10,06 | 57,40 | 19,98      | 1,028  | 19,46   | 3,29 |
| M9     | 12,14 | 32,90  | 29,05  | 2,58  | 6,10  | 1,81   | 7,75  | 63,66 | 17,90      | 1,021  | 17,53   | 3,05 |
| M10    | 12,32 | 30,58  | 24,29  | 2,05  | 9,90  | 4,59   | 5,68  | 44,58 | 21,52      | 1,004  | 21,44   | 3,28 |
| M12    | 25,39 | 35,59  | 34,09  | 3,67  | 18,70 | 6,96   | 14,76 | 58,14 | 19,40      | 1,003  | 19,33   | 3,72 |
| M13    | 17,04 | 28,60  | 26,00  | 2,01  | 9,20  | 3,36   | 11,66 | 68,58 | 18,20      | 1,003  | 18,15   | 3,15 |
| M14    | 15,46 | 27,66  | 27,04  | 1,95  | 10,10 | 4,68   | 8,83  | 55,33 | 18,56      | 1,005  | 18,47   | 3,41 |
| M23    | 10,82 | 28,41  | 19,75  | 2,16  | 5,00  | 1,96   | 6,70  | 61,58 | 19,34      | 1,020  | 18,98   | 3,50 |
| MÉDIA  | 16,11 | 31,14  | 27,84  | 2,41  | 10,57 | 3,77   | 9,93  | 60,84 | 18,71      | 1,01   | 18,48   | 3,32 |
| DESVIO | 5,83  | 3,82   | 4,45   | 0,86  | 3,78  | 1,77   | 4,03  | 8,07  | 1,72       | 0,01   | 1,73    | 0,17 |
| MÍNIMO | 7,36  | 23,14  | 19,75  | 1,14  | 5,00  | 1,61   | 4,61  | 44,58 | 15,38      | 1,003  | 15,31   | 3,05 |
| MÁXIMO | 28,39 | 38,13  | 34,97  | 4,51  | 18,70 | 7,31   | 19,83 | 72,67 | 21,62      | 1,037  | 21,44   | 3,72 |

MF: massa do fruto; CF: comprimento do fruto; DF: diâmetro do fruto; MC: massa da casca; NS: número de sementes; MTS: massa total da semente; MP: massa da polpa; RP: rendimento da polpa; SST: sólidos solúveis totais; ATT: acidez total titulável; pH: potencial Hidrognênico.

O número de sementes (NS) com média de 10,57 oscilou de 5 (M23) a 18,70 (M12) e a massa total das sementes (MTS) variou entre 1,61 g (M7) e 7,31 g (M12) com média de 3,77 g (Tabela 4). Em outros estudos com mangabeira há relatos para o número médio de sementes de 14,80 e 16,10 e de 5,05 g para massa das sementes (FREITAS et al., 2012; SOUZA et al., 2007). Para o consumo *in natura* e processamento são preferidos frutos com menos sementes, visto que a polpa da mangaba é o produto que se destacou comercialmente (GONÇALVES et al., 2013). O número de sementes foi correlacionado positivamente com a massa de polpa (Anexo A). Desta forma, a seleção de plantas com frutos grandes e um pequeno número de sementes é dificultada.

A escolha de acessos que apresentam um melhor desempenho no parâmetro rendimento de polpa pode ser interessante, uma vez que o mesmo é dependente da massa do fruto, da casca e das sementes. O rendimento da polpa variou de 44,58% (M10) a 72,67% (M1) com média de 60,84% (Tabela 4). Em termos comerciais, o rendimento da polpa é a característica mais importante (FREITAS et al., 2012). Nessa característica, os acessos M1, M2, M3 e M13 apresentaram melhor desempenho.

O teor de sólidos solúveis totais (SST) é parâmetro de relevância por estar relacionado com a doçura das frutas. O teor de açúcar em frutas corresponde, normalmente, a aproximadamente 85% dos sólidos solúveis totais e, para frutas cítricas, de 75 a 85% (MAGWAZA; OPARA, 2015). Nos sólidos solúveis totais obteve-se a média de 18,71 °Brix e uma variação de 15,38 °Brix (M2) a 21,62 °Brix (M1) (Tabela 4). Esse resultado está de acordo com a média de 17,57 °Brix relatada para frutos maduros de mangabeiras de Goiás (PERFEITO et al., 2015). Com relação a essa característica, todos os acessos são promissores, pois produziram frutos com SST superior ao mínimo de 7 e 8,0 °Brix estabelecido pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), respectivamente, para suco e polpa de mangaba (BRASIL, 2000; BRASIL, 2003).

A acidez total titulável (ATT) variou entre 1,003% (M12 e M13) e 1,037% (M3), sendo a média 1,01% (Tabela 4), a qual foi semelhante a ATT relatada na literatura para mangabeiras da Bahia e Minas Gerais (LIMA et al., 2015b; SILVA et al., 2013). Nesse parâmetro, todos os acessos estudados demonstraram potencial para consumo *in natura* e processamento, uma vez que possuem acidez superior ao

mínimo de 0,7 g/100 g exigido pelo MAPA para suco e polpa de mangaba (BRASIL, 2000; BRASIL, 2003).

A relação SST/ATT está relacionada com o sabor dos frutos. É um parâmetro muito utilizado para indicar a maturação dos frutos para consumo fresco e processamento (RUFINO et al., 2009). Na relação SST/ATT a média foi de 18,48 com variação entre 15,31 (M2) e 21,44 (M10) (Tabela 4). Resultado semelhante foi relatado para mangabeiras da Bahia (NASCIMENTO; CARDOSO; COCOZZA, 2014). O suco ou a polpa da fruta é geralmente mais agradável quanto maior for a relação SST/ATT, pois proporcionam um equilíbrio entre o doce e o ácido (BRACKMAN et al., 2011; GRECO; PEIXOTO; FERREIRA, 2014). Os acessos M1 e M10 apresentaram melhor desempenho nesse parâmetro.

O potencial hidrogeniônico (pH) apresentou a média de 3,32 e variação de 3,05 (M9) a 3,72 (M12) (Tabela 4). Esses resultados estão de acordo com o pH relatado na literatura para mangabeira (LIMA et al., 2015b; RUFINO et al., 2010). Na industrialização, a baixa acidez facilita o desenvolvimento de microrganismos. Assim, o pH ácido é utilizado para conservação dos alimentos, uma vez que a proliferação de microrganismos é restrita em  $\text{pH} < 4,5$  (HOFFMANN et al., 2001).

Desta forma, na industrialização é preferível frutos com elevada acidez, visto que os custos do processamento são reduzidos por não ser necessária a adição de acidificantes, enquanto para o consumo fresco são mais agradáveis frutas com baixa acidez (ABREU et al., 2009; ASSUMPÇÃO et al., 2014). Elevada acidez confere um sabor menos doce aos frutos que não agrada os consumidores de frutas frescas (CHAGAS et al., 2016).

Como já esperado, todas as características físicas foram correlacionadas positivamente, exceto MP x MTS e RP. O RP não apresentou correlações significativas com nenhum dos caracteres físicos. Nas variáveis físico-químicas somente a relação SST/ATT foi altamente correlacionada com SST (Anexo A).

Os dois primeiros componentes principais explicaram 71,55% da variância total. Na determinação do componente principal 1 (CP1) que reteve 47,76% da variação total, as características físicas dos frutos apresentaram uma combinação positiva e foram as mais influentes, exceto massa total das sementes e rendimento de polpa. O componente principal 2 (CP2) explicou 23,79% da variância total e foi mais influenciado pela interação positiva das características MTS, SST, SST/ATT e pH e negativa para RP e ATT (Tabela 5).

Tabela 5 - Estimativa dos autovalores, porcentagem da variância retida pelos dois primeiros componentes principais e contribuição relativa para variância de cada característica física e físico-química dos frutos de 14 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte.

| Componentes principais        | CP1         | CP2     |
|-------------------------------|-------------|---------|
| Autovalores                   | 5,7323      | 2,8552  |
| Variância (%)                 | 47,7601     | 23,7889 |
| % Acumulada                   | 47,7601     | 71,5489 |
| Variáveis                     | Autovetores |         |
| Massa do fruto (MF)           | 0,4042      | 0,2610  |
| Comprimento do fruto (CF)     | 0,3767      | -0,0183 |
| Diâmetro do fruto (DF)        | 0,3883      | 0,0121  |
| Massa da casca (MC)           | 0,3743      | -0,0286 |
| Número de sementes (NS)       | 0,3598      | 0,2399  |
| Massa total da semente (MTS)  | 0,2872      | 0,3985  |
| Massa da Polpa (MP)           | 0,3782      | -0,1315 |
| Rendimento da polpa (RP)      | 0,0463      | -0,4331 |
| Sólidos solúveis totais (SST) | -0,1487     | 0,4036  |
| Acidez total titulável (ATT)  | 0,0373      | -0,3597 |
| SST/ATT                       | -0,1487     | 0,4377  |
| Potencial hidrogeniônico (pH) | 0,0329      | 0,3034  |

Com o gráfico *biplot*, percebeu-se que os acessos apresentaram-se dispersos demonstrando a existência de variabilidade apesar de terem a mesma procedência, exceto o M23 que é proveniente do Piauí. Os acessos M6 e M12 são similares por apresentarem elevado número e massa total de sementes. O M3 dispersou-se dos demais por apresentar maiores valores de comprimento e diâmetro do fruto, massa da casca, da polpa e do fruto. O acesso M10 destacou-se pelos SST e SST/ATT elevados e baixos valores para ATT e RP, enquanto o M7 caracterizou-se pelos menores valores de massa total das sementes, número de sementes, massa do fruto, comprimento e diâmetro dos frutos, massa da polpa e massa da casca e por esses aspectos foi mais próximo do M23, M5, M1, M13 e M9 (Figura 1).

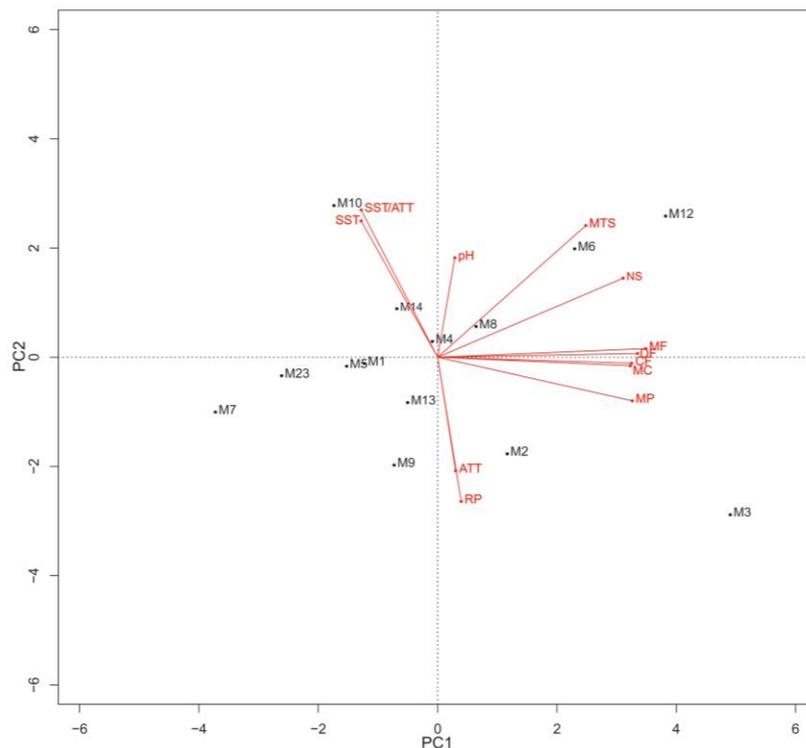


Figura 1 - Gráfico biplot bidimensional de dispersão dos 14 acessos de mangabeira provenientes do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte a partir dos dois primeiros componentes principais. MP: massa do fruto; CF: comprimento do fruto; DF: diâmetro do fruto; MC: massa da casca; NS: número de sementes; MTS: massa total da semente; MP: massa da polpa; RP: rendimento da polpa; SST: sólidos solúveis totais; ATT: acidez total titulável; pH: potencial hidrogeniônico.

Pelo método de Singh (1981), verificou-se que todas as características dos frutos foram importantes para a divergência genética entre os acessos, com um pequeno destaque para massa total das sementes e acidez total titulável (Tabela 6).

Tabela 6 - Contribuição relativa das características físicas e físico-químicas dos frutos para a divergência genética entre os 14 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte estimada pelo método de Singh (1981).

| Variável                 | S.j     | Valor (%) |
|--------------------------|---------|-----------|
| Massa do fruto           | 13,9763 | 8,0421    |
| Comprimento do fruto     | 11,7939 | 6,7863    |
| Diâmetro do fruto        | 15,5653 | 8,9564    |
| Massa da casca           | 11,8252 | 6,8044    |
| Número de sementes       | 13,8847 | 7,9894    |
| Massa total das sementes | 17,6174 | 10,1372   |
| Massa da polpa           | 12,7766 | 7,3518    |
| Rendimento da polpa      | 15,0319 | 8,6495    |
| Sólidos solúveis totais  | 13,8877 | 7,9911    |
| Acidez total titulável   | 20,5669 | 11,8344   |
| SST/ATT                  | 14,5045 | 8,346     |
| Potencial hidrogeniônico | 12,3584 | 7,1112    |

S.j: valor estimado da estatística de Singh; SST: sólidos solúveis totais; ATT: acidez total titulável.

Pelo método de otimização de Tocher, os 14 acessos foram divididos em três grupos. No grupo I concentrou-se a maioria dos acessos com a distância intragrupo de 0,3253, exceto M3 e M12 que constituíram grupos únicos, evidenciando-se desta forma a divergência destes dois acessos em relação aos demais. Os grupos I e II apresentaram a menor distância intergrupo (0,4803), sendo a maior distância verificada entre o grupo I e III (0,5625) (Tabela 7).

Tabela 7 - Agrupamento de 14 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte pelo método de otimização de Tocher, baseado na distância euclidiana média.

| Grupo | Acessos  | Distância intragrupo | Distância intergrupo          |
|-------|--|----------------------|-------------------------------|
| I     | M7, M23, M5, M14, M13, M4, M9, M8, M1, M10, M2, M6 | 0,3253               | IxII= 0,4803<br>IxIII= 0,5625 |
| II    | M12  | -                    | IIxIII= 0,507                 |
| III   | M3   | -                    |                               |

A matriz de distância euclidiana média demonstrou a existência de variabilidade entre os acessos com os coeficientes variando de 0,178 a 0,720. Os acessos M7 e M23 apresentaram a menor distância, enquanto a maior distância foi observada entre os indivíduos M3 e M10 (Anexo B). O valor calculado de  $r$  foi 0,8064 indicando que o agrupamento não introduziu distorções significativas e, portanto, o dendrograma representa a matriz de dados originais.

A análise de agrupamento baseada na matriz de distância com média de 0,377, a qual foi utilizada como ponto de corte do dendrograma, permitiu a identificação de três grupos. O grupo I incluiu os acessos M1, M2, M3, M4, M5, M7, M8, M9, M10, M13, M14 e M23. O grupo II foi formado pelos acessos M6 e M12, enquanto o M3 constituiu o grupo III (Figura 2). A formação dos grupos foi similar ao obtido pelo agrupamento de Tocher, exceto no aspecto do M6 ter sido agrupado junto com o M12. Essa divergência na formação do agrupamento pode ser decorrente das diferenças entre os métodos de análise.

O acesso M3, em todas as análises, apresentou-se como o mais divergente em relação aos demais acessos, destacando-se pelos elevados valores das características físicas dos frutos: MF, CF, DF, MC, MP e RP. Assim, é um bom candidato para programas de melhoramento. O acesso M1 também constitui uma boa opção para o melhoramento, pois apesar dos frutos possuírem tamanho intermediário, apresenta o rendimento de polpa e relação SST/ATT elevados. O M10 destacou-se pela relação SST/ATT, entretanto possui baixo rendimento de polpa.

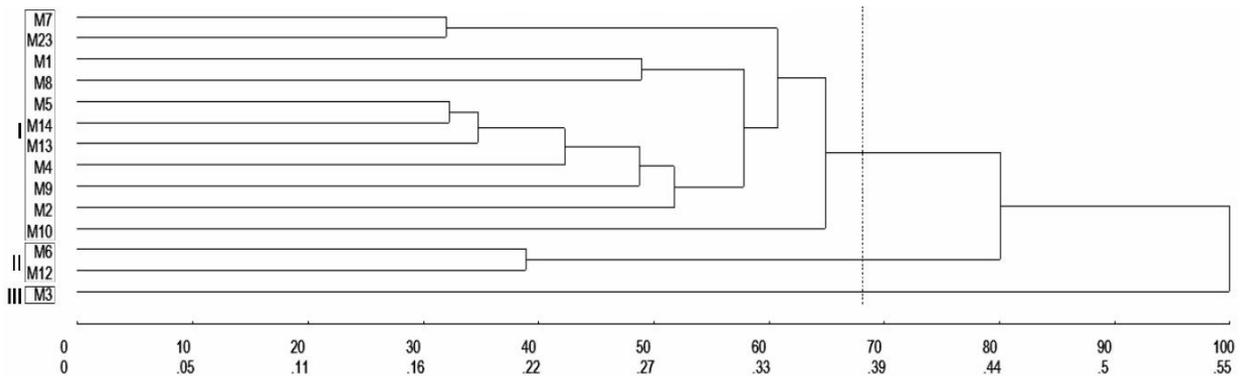


Figura 2 - Dendrograma gerado pelo método UPGMA, baseado na distância euclidiana média obtida a partir de 12 características físicas e físico-químicas dos frutos, mostrando as relações genéticas entre os 14 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte.

## 4.2 Caracterização molecular

### 4.2.1 Similaridade genética

A eficiência dos marcadores moleculares para estimar a diversidade genética é frequentemente avaliada pelo número de locos polimórficos amplificados (GRATIVOL et al., 2011). Os marcadores ISSR geraram 166 bandas das quais 120 (72,29%) foram polimórficas, sendo, portanto informativos para a espécie. O tamanho das bandas variou de 271 a 3973 pb. O número médio de bandas por iniciador foi de 15,09, sendo o menor e o maior número de bandas geradas, respectivamente, pelos iniciadores UBC 813 (4) e UBC 826 (25) (Tabela 8). O perfil de bandas do iniciador UBC 857 é demonstrado na Figura 3.

Tabela 8 - Bandas geradas pelos 11 marcadores ISSR utilizados para amplificar o DNA de 29 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte.

| Iniciadores | Bandas amplificadas |              | % de polimorfismo | Tamanho das bandas (pb) |
|-------------|---------------------|--------------|-------------------|-------------------------|
|             | Total               | Polimórficas |                   |                         |
| UBC 808     | 11                  | 7            | 63,64             | 292-1388                |
| UBC 813     | 4                   | 2            | 50,00             | 900-1930                |
| UBC 822     | 8                   | 8            | 100,00            | 494-1830                |
| UBC 826     | 25                  | 20           | 80,00             | 271-3973                |
| UBC 827     | 14                  | 10           | 71,43             | 500-2500                |
| UBC 834     | 21                  | 14           | 66,67             | 534-2500                |
| UBC 836     | 18                  | 9            | 50,00             | 297-1950                |
| UBC 844     | 12                  | 9            | 75,00             | 283-3400                |
| UBC 855     | 11                  | 7            | 63,64             | 475-887                 |
| UBC 857     | 23                  | 20           | 86,96             | 222-2263                |
| UBC 886     | 19                  | 14           | 73,68             | 283-2260                |
| Total       | 166                 | 120          | 72,29             | 271-3973                |

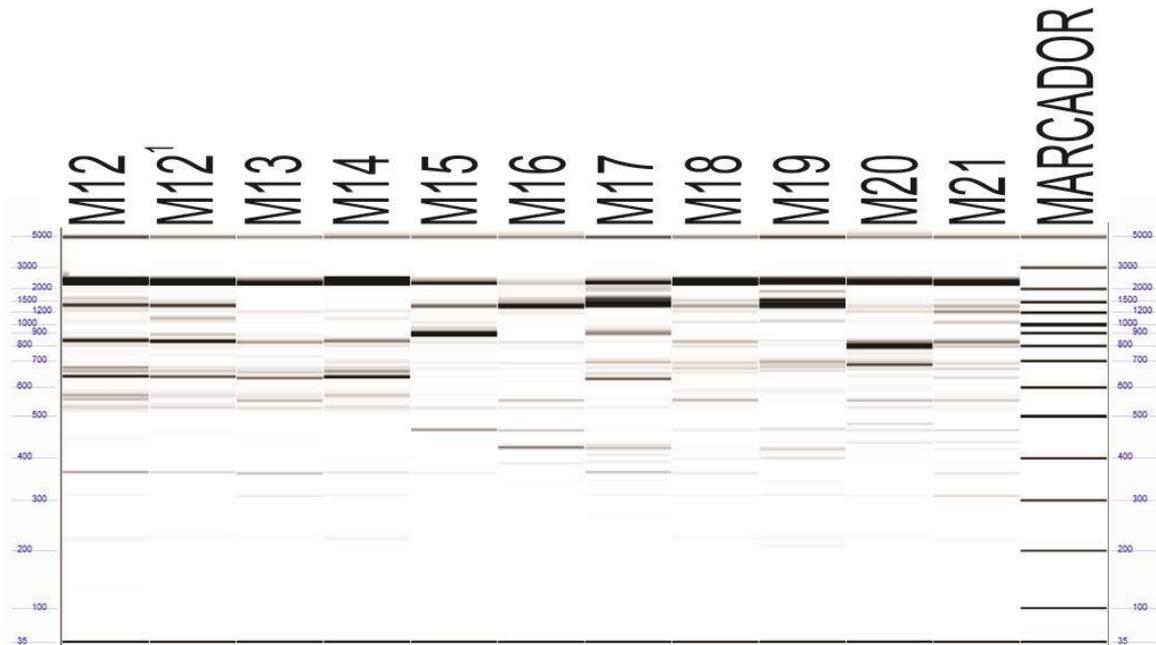


Figura 3 - Gel virtual gerado a partir de eletroforese capilar mostrando o perfil de bandas obtido pela amplificação do DNA de 11 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte com o iniciador UBC 857.

Os resultados encontrados neste estudo estão de acordo com a variação da porcentagem de polimorfismo (47,62-89,25%) e número de bandas (10,5-15,5) relatados na literatura para mangabeira com marcadores ISSR (COSTA et al., 2015; JIMENEZ et al., 2015).

As similaridades genéticas entre os acessos variaram de 0,57 a 0,94. Os acessos M1 e M10 foram os mais semelhantes, enquanto a maior divergência foi observada entre os acessos M16 e M23 (Anexo C). A amplitude de variação da similaridade genética foi semelhante ao relatado para 20 acessos de mangabeira de Sergipe com marcadores ISSR (AMORIM et al., 2013).

A mangabeira é uma espécie alógama e autoincompatível (PINTO; OLIVEIRA; SCHLINDWEIN, 2008). Com esse mecanismo de reprodução, esperava-se que os indivíduos apresentassem uma maior variabilidade genética, pois na polinização cruzada há a recombinação de genes de diferentes plantas favorecendo o aparecimento de novas combinações gênicas não existentes nos genitores. Entretanto, percebeu-se que muitos acessos apresentaram uma pequena distância genética, principalmente os provenientes da Paraíba que quando foram comparados dois a dois verificou-se uma menor similaridade entre os acessos M4 e M8 (0,74) e a maior entre o M1 e M10 (0,94).

A correlação cofenética ( $r$ ) de 0,9049 indicou que o agrupamento pelo método UPGMA não introduziu distorções significativas, sendo, portanto, o dendrograma

representativo da matriz de dados originais. A média de 0,76 do coeficiente de Jaccard considerando todos os locos foi utilizada como ponto de corte do dendrograma. Desta forma, os acessos foram separados em sete grupos (Figura 4).

O grupo I foi formado por seis acessos provenientes do Piauí: M18, M21, M22, M24, M25 e M29. O grupo II foi composto pelos acessos M19 e M30 também do Piauí. Os grupos III, VI e VII foram constituídos por acessos únicos, os quais são, respectivamente, M20, M27 e M16. O grupo IV incluiu todos os acessos da Paraíba além do M10<sup>2</sup> da Bahia, M12<sup>1</sup> de Sergipe e o M23 do Piauí, enquanto o grupo V ficou representado pelo M15 e M17 oriundos do Distrito Federal.

Os acessos M10<sup>2</sup>, M12<sup>1</sup> e M23 agruparam com indivíduos de outro estado (Paraíba). Nogueira et al. (2015) avaliaram a diversidade genética em acessos de mangabeira de nove estados do Brasil por meio de marcadores ISSR e RAPD e relataram que acessos de regiões distantes pertenceram a um mesmo grupo e não se observou a presença de fragmentos específicos para as seis variedades botânicas de mangabeira estudadas. Neste estudo, um loco do iniciador UBC 822 apresentou-se específico para a variedade *speciosa*.

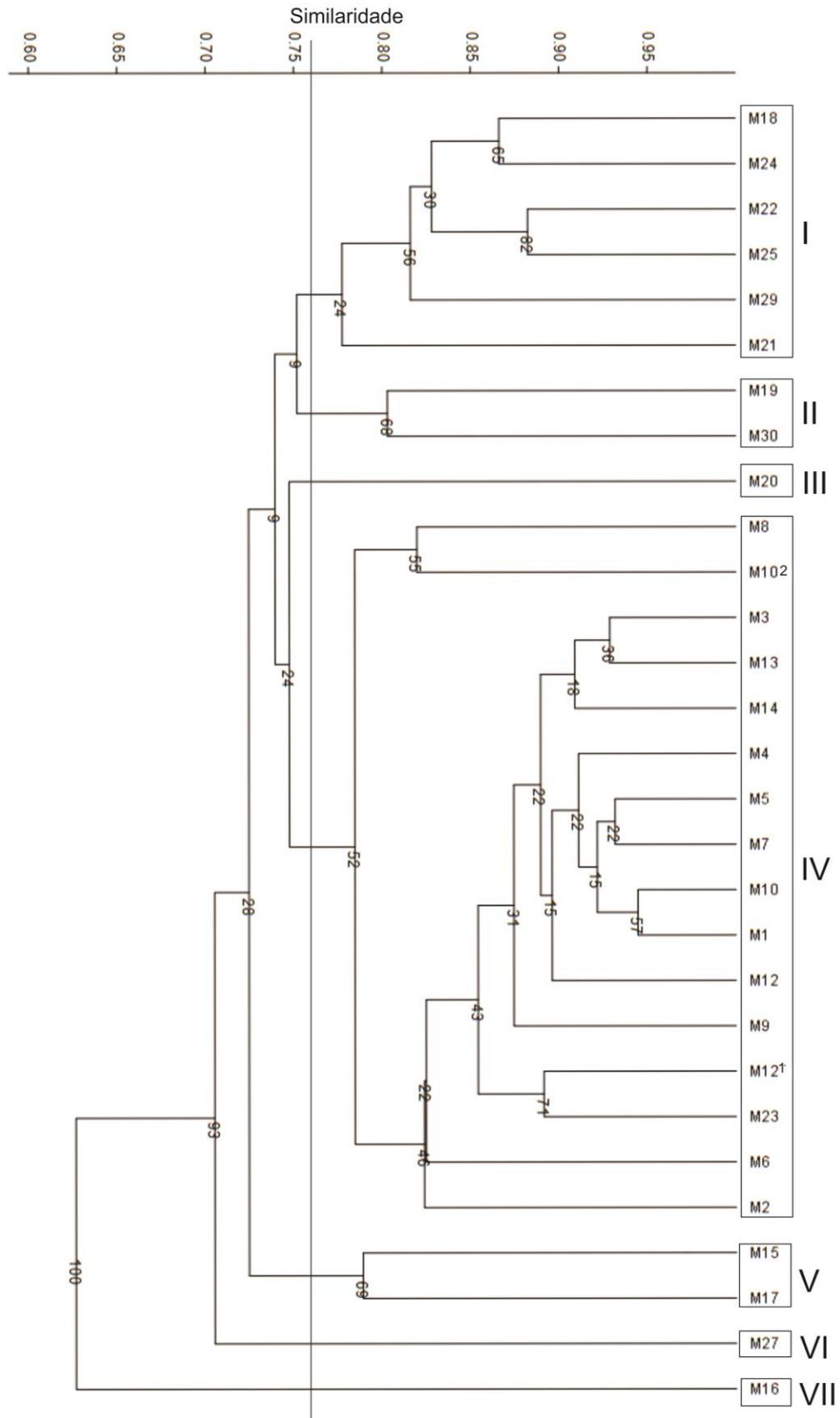


Figura 4 - Dendrograma gerado pelo método UPGMA, baseado na similaridade de Jaccard, mostrando as relações genéticas entre os 29 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte, obtido a partir de 11 iniciadores ISSR que geraram 166 locos dos quais 120 foram polimórficos.

#### 4.2.2 Diversidade genética, estrutura e diferenciação entre as populações

O número de locos polimórficos variou de 64 (população do Distrito Federal) a 95 (população do Piauí). O índice de diversidade genética de Nei (h) foi 0,2593 considerando todos os acessos e nas populações variou de 0,1505 a 0,2372. O índice de Shannon-Weaver (I) oscilou entre 0,2202 e 0,3430 nas populações e em nível de todos os indivíduos I foi 0,3857 (Tabela 9).

Tabela 9 - Parâmetros de diversidade genética, diferenciação e fluxo gênico obtidos para três populações de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte.

| População               | NLP | PLP (%) | h      | I      | Nm     | G <sub>ST</sub> |
|-------------------------|-----|---------|--------|--------|--------|-----------------|
| Paraíba                 | 65  | 39,16   | 0,1505 | 0,2202 |        |                 |
| Distrito Federal        | 64  | 38,55   | 0,1575 | 0,2293 |        |                 |
| Piauí                   | 95  | 57,23   | 0,2372 | 0,3430 |        |                 |
| Todos os indivíduos     |     |         | 0,2593 | 0,3857 |        |                 |
| Populações subdivididas |     |         |        |        | 1,0401 | 0,3246          |

NLP: número de locos polimórficos; PLP: porcentagem de locos polimórficos; h: índice de diversidade genética de Nei; I: índice de Shannon-Weaver; Nm: fluxo gênico; G<sub>ST</sub>: índice de diferenciação genética entre as populações.

A população do Piauí apresentou maior diversidade genética em relação as demais, entretanto como o h máximo é 0,5 para cada loco e o I máximo é 0,69 obtido pela fórmula  $I = -\sum p_i \ln(p_i)$ , foi possível inferir que as populações apresentaram baixa ou moderada diversidade genética, concordando com estudos anteriores de mangabeira a partir de marcadores ISSR (COSTA et al., 2015; JIMENEZ et al., 2015). A diversidade genética da população do Distrito Federal pode estar subestimada devido ao pequeno tamanho amostral. Além disso, a baixa variabilidade intrapopulacional pode estar relacionada à deriva genética e a cruzamentos endogâmicos (RODRIGUES, 2015; WU et al., 2014).

Os valores de G<sub>ST</sub> e Nm indicaram que 32,46% da variação foram entre as populações com a ocorrência de um migrante a cada geração (Tabela 9). O fluxo gênico entre populações pode afetar grandemente a distribuição da variação genética, pois o mesmo tende a introduzir novas combinações alélicas dentro das populações e a reduzir a diferenciação entre as populações (HAMRICK, 2012). Fluxo gênico maior que um é considerado alto o suficiente para prevenir a diferenciação entre as populações devido à deriva genética (SHEIDAI et al., 2016; VIANNA et al., 2015). Entretanto, o fluxo gênico estimado a partir do índice de diferenciação genética entre as populações é considerado histórico, referindo-se, desse modo, a troca de alelos que ocorreu no passado (RAPOSO et al., 2007).

A AMOVA permitiu inferir que a maior parte da variabilidade genética encontra-se dentro das populações (69,66%) e que as mesmas apresentaram uma elevada diferenciação genética com o  $\Phi_{ST}$  de 0,3034 (Tabela 10). Esse resultado foi similar ao  $\Phi_{ST}$  de 0,30 encontrado para mangabeiras da zona costeira de Pernambuco com marcadores ISSR (JIMENEZ et al., 2015). Em espécies perenes e alógamas, como a mangabeira, espera-se que a variação seja maior dentro das populações, enquanto nas autógamias e anuais a maior variabilidade genética é encontrada entre populações (HU et al., 2010).

Tabela 10 - Análise de variância molecular mostrando a variabilidade genética encontrada entre e dentro das populações de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte.

| Fontes de variação    | Soma dos quadrados | Componentes da variância | Porcentagem da variação | Índice de fixação ( $\Phi_{ST}$ ) | P-valor |
|-----------------------|--------------------|--------------------------|-------------------------|-----------------------------------|---------|
| Entre as populações   | 123,884            | 6,03784                  | 30,34                   | 0,30340                           | 0,00000 |
| Dentro das populações | 322,709            | 13,86286                 | 69,66                   |                                   |         |
| Total                 | 456,593            | 19,90070                 |                         |                                   |         |

P-valor: probabilidade de significância.

A estrutura genética das populações é resultante da ação mútua de fatores evolutivos como migração, deriva genética, seleção natural e dos aspectos ecológicos que afetam a reprodução e dispersão das espécies (LOVELESS; HAMRICK, 1984). Essa diferenciação genética também pode estar relacionada a eventos casuais na transmissão dos alelos de uma geração a outra ou a eventuais diferenças nas frequências alélicas dos indivíduos fundadores dessas populações (HARTL; CLARCK, 2010).

Estudos de avaliação da diversidade genética em mangabeira com marcadores SSR têm relatado um índice de fixação intrapopulacional ( $f$ ) positivo e sugerem que a endogamia exerce uma função importante na diferenciação genética das populações (AMORIM et al., 2015; RODRIGUES, 2015). Assim, a estrutura genética observada nas populações de mangabeira amostradas neste estudo também pode estar sendo influenciada por cruzamentos entre indivíduos aparentados, os quais resultam no acúmulo de diferenças entre populações.

As três populações de mangabeira foram alocadas em dois grupos genéticos distintos. A população da Paraíba constituiu um grupo genético (cor verde), enquanto as populações do Distrito Federal e Piauí formaram o outro grupo (cor

vermelha). Entretanto, observou-se que houve uma mistura de genomas entre os dois grupos genéticos, inclusive com o acesso M23 oriundo do Piauí tendo maior chance de pertencer ao grupo genético da Paraíba, concordando também com o agrupamento UPGMA no qual o mesmo foi agrupado com os acessos da Paraíba (Figuras 5 e 6). Esse fluxo gênico provavelmente foi estabelecido a partir da dispersão de sementes de forma antrópica e não por insetos polinizadores da mangabeira, tais como abelhas e mariposas (DARRAULT; SCHLINDWEIN, 2005), pois esses insetos geralmente não percorrem grandes distâncias a procura de alimento.

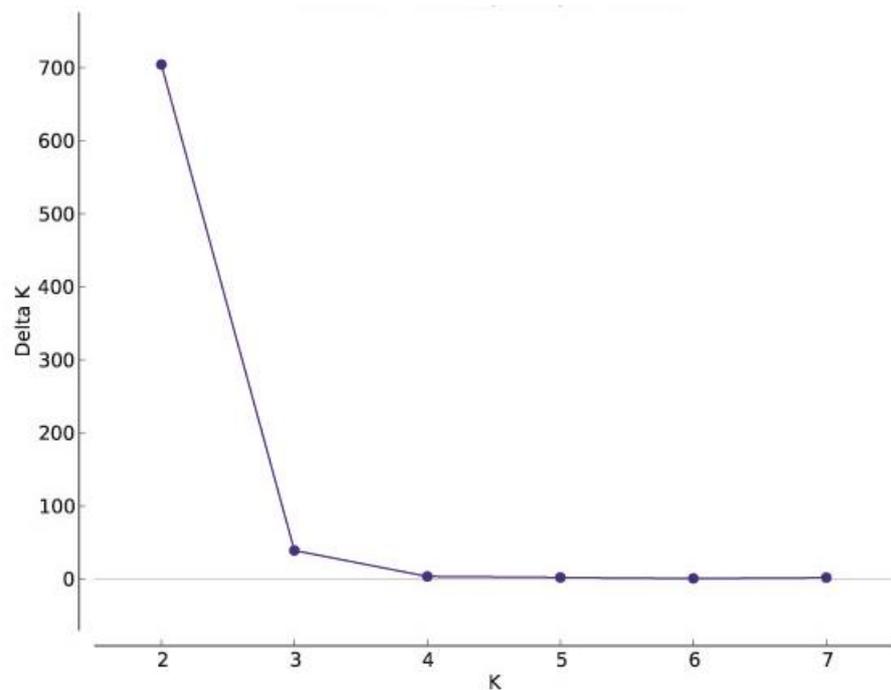


Figura 5 - K=2 estimado para as três populações de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte segundo a metodologia de Evano, Regnaut e Goudet (2005).

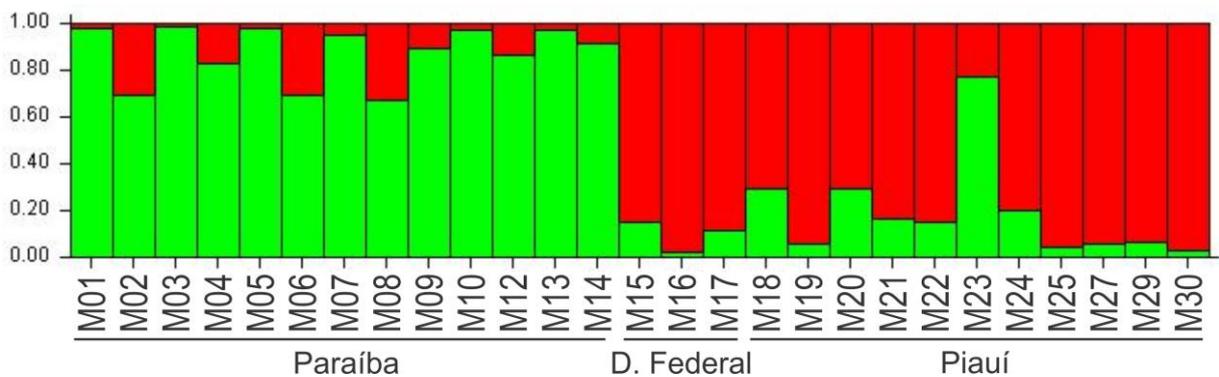


Figura 6 - Três populações de mangabeira (Paraíba, Distrito Federal e Piauí) provenientes do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte alocadas em dois grupos genéticos distintos.

## 5 CONCLUSÕES

Os acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte exibem variabilidade genética para as características físicas e físico-químicas dos frutos avaliadas, sendo a massa total das sementes e acidez total titulável os caracteres que mais contribuíram para a divergência genética entre acessos.

A baixa ou moderada diversidade genética dentro das populações de mangabeira estudadas e a elevada diferenciação genética entre as mesmas são indícios da ocorrência de fatores que reduzem a heterozigosidade e elevam as diferenças entre as populações, tais como endogamia e deriva genética. Dessa forma, é importante a amostragem do maior número possível de populações provenientes de diferentes locais de coleta para a eficiência de programas de conservação e melhoramento genético da mangabeira.

## 6 REFERÊNCIAS

- ABREU, S. P. M.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SOUSA, M. A. F. Características físico-químicas de cinco genótipos de maracujazeiro-azedo cultivados no distrito federal. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 2, p. 487-491, 2009.
- AGARWAL, M.; SHRIVASTAVA, N.; PADH, H. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. **Plant Cell Reports**, v. 27, p. 617-631, 2008.
- 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 JUNIOR, R. S.; GRAEFF, C. F. O.; GONÇALVES, P. J. *Hancornia speciosa* latex for biomedical applications: physical and chemical properties, biocompatibility assessment and angiogenic activity. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 25, n. 9, p. 2153-2162, 2014.
- ALMEIDA, M. M. B.; SOUSA, P. H. M.; ARRIAGA, A. M. C.; PRADO, G. M.; MAGALHÃES, C. E. C.; MAIA, G. A.; LEMOS, T. L. G. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 2155-2159, 2011.
- ALZATE-MARIN, A. L.; CERVIGNI, G. D. L.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 333-342, 2005.
- AMORIM, J. A. E.; MUNIZ, A. V. C. S.; VITORIA, M. F.; RAMOS, S. R. R. Diversidade genética de indivíduos de mangabeira oriundos do povoado Abaís, em Sergipe. In: 7º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 2013, Uberlândia. **Variedade melhorada: a força da nossa agricultura: anais**. Viçosa, MG: SBMP, 2013.
- AMORIM, J. A. E.; MATA, L. R.; LÉDO, 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.
- ARAÚJO, I. A.; FERREIRA, E. G.; SOARES, K. T.; FONTINÉLLI, I. S. C. **Mangabeira: Características Físicas de Frutos da Mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) Cultivada na Zona da Mata Paraibana**. 2009. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2009\\_2/Mangabeira/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2009_2/Mangabeira/index.htm)>. Acesso em: 12/5/2016.
- ARIF, I. A.; BAKIR, M. A.; KHAN, H. A.; AL FARHAN, A. H.; AL HOMAIDAN, A. A.; BAHKALI, A. H.; AL SADOON, M.; SHOBRAK, M. A brief review of molecular techniques to assess plant diversity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, n. 5, p. 2079-2096, 2010.

ASSUMPÇÃO, C. F.; MORZELLE, P. B. M. M.; NELSON, D. L.; NDIAYE, E. A.; RIOS, A. O.; SOUZA, E. C. Characterization, antioxidant potential and cytotoxic study of mangaba fruits. **Ciência Rural**, v. 44, n. 7, p. 1297-1303, 2014.

BAENA, M.; JARAMILLO, S.; MONTOYA, J. E. **Material de apoyo a la capacitación en conservación *in situ* de la diversidad vegetal en áreas protegidas y en fincas**. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Cali, Colombia, 2003.

BASTOS, L. P.; MOREIRA, M. J. S.; COSTA, M. A. P. C.; ROCHA, M. C.; HANSEN, D. S.; SILVA, S. A.; DANTAS, A. C. V. L.; SOUSA, C. S. Cultivo *in vitro* de Mangabeira (*Hancornia speciosa*). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 1122-1124, 2007.

BARROS, D. I.; BRUNO, R. L. A.; NUNES, H. V.; MENDONÇA, R. M. N.; PEREIRA, W. E. Comportamento fisiológico de sementes de mangaba submetidas à dessecação. **Revista Acta Tecnológica**, v. 5, n. 1, p. 32-43, 2010.

BESSA, L. A.; SILVA, F. G.; MOREIRA, M. A.; TEODORO, J. P. R.; SOARES, F. A. L. Characterization of the effects of macronutrient deficiencies in mangabeira seedlings. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 4, p. 1235-1244, 2012.

BRACKMANN, A.; PAVANELLO, E. P.; BOTH, V.; JANISCH, D. I.; SCHMITT, O. J.; GIMÉNEZ, G. Avaliação de genótipos de morangueiro quanto à qualidade e potencial de armazenamento. **Revista Ceres**, v. 58, n.5, p. 542-547, 2011.

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 polpa de fruta**. Diário Oficial da República federativa do Brasil, Brasília, 10 de jan 2000. Seção 1, p. 53.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [Internet]. Instrução normativa nº 12, de 4 de setembro de 2003. **Regulamento técnico geral para fixação de identificação e qualidade gerais para suco tropical**. Diário Oficial da República federativa do Brasil, Brasília, Ed. nº 174 de 09 de setembro de 2003.

CARDOSO, L. M.; MARTINO, H. S. D.; MOREIRA, A. V. B.; RIBEIRO, S. M. R.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) of the Cerrado of Minas Gerais, Brazil: Physical and chemical characterization, carotenoids and vitamins. **Food Research International**, v. 44, p. 2151-2154, 2011.

CARDOSO, L. M.; REIS, B. L.; OLIVEIRA, D. S.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) from the Brazilian Cerrado: nutritional value, carotenoids and antioxidant vitamins. **Fruits**, v. 69, p. 89-99, 2014.

CAMPOS FILHO, E. M.; SARTORELLI, P. A. R. **Guia de árvores com valor econômico**. São Paulo: Agroicone, 2015.

CAVALCANTE, I. H. L.; CAVALCANTE, L. F.; MIRANDA, J. M. S.; MARTINS, A. B. G. Physical and chemical characteristics of tropical and non-conventional fruits. In: VALDEZ, B. **Food Industrial Processes - Methods and Equipment**. InTech, 2012. p. 3-16.

CAVICHIOLO, J. C.; RUGGIERO, C.; VOLPE, C. A. Caracterização físico-química de frutos de maracujazeiro-amarelo submetidos à iluminação artificial, irrigação e sombreamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 3, p. 649-656, 2008.

CHAGAS, K.; ALEXANDRE, R. S.; SCHMILDT, E. R.; BRUCKNER, C. H.; FALEIRO, F. G. Divergência genética em genótipos de maracujazeiro azedo, com base em características físicas e químicas dos frutos. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 3, p. 524-531, 2016.

CHAVES, L. J. Recursos genéticos no Cerrado. In: SILVA JÚNIOR, J. F.; LÉDO, A. S. **A cultura da mangaba**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006. p. 75-84.

CLEVENGER, J.; CHAVARRO, C.; PEARL, S. A.; OZIAS-AKINS, P.; JACKSON, S. A. Single nucleotide polymorphism identification in polyploids: a review, example, and recommendations. **Molecular Plant**, v. 8, p. 831-846, 2015.

COLLARD, B. C. Y., JAHUFER, M. Z. Z., BROUWER, J. B., PANG, E. C. K. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. **Euphytica**, v. 142, p. 169-196, 2005.

COLLETTE, L.; LUCHETTI, D.; PILLING, D.; ASFAW, A.; FONTENEAU, A. **Coping with climate change** – the roles of genetic resources for food and agriculture. Rome, FAO, 2015. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i3866e.pdf>. Acessado em: 05 de Abril de 2016.

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. 37, n. 4, p. 970-976, 2015.

COSTA, T. S.; SILVA, A. V. C.; LÉDO, A. S.; SANTOS, A. R. F.; SILVA JUNIOR, J. F. Diversidade genética de acessos do banco de germoplasma de mangaba em Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 5, p. 499-508, 2011.

CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Visconde do Rio Branco: suprema, 2011.

CRUZ, C. D.; SALGADO, C. C.; BHERING, L. L. Biometria aplicada à análise molecular em diversidade genética. In: BORÉM, A.; FRITSCHÉ-NETO, R. **Biotecnologia aplicada ao melhoramento de plantas**. Visconde do Rio Branco: suprema, 2013. p. 69-117.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

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

DARRAULT, R. O.; SCHLINDWEIN, C. Polinização. In: SILVA JÚNIOR, J. F.; LÉDO, A. S. **A cultura da mangaba**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006. p. 43-56.

EARL, D. A.; VONHOLDT, B. M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation Genetics Resources**, v. 4, n. 2, p. 359-361, 2012.

EPSTEIN, L. Mangaba: “coisa boa de comer”. **Bahia Agrícola**, v. 6, n. 2, p. 19-22, 2004.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, v. 14, p. 2611-2620, 2005.

EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, p. 564-567, 2010.

FAGUNDES, G. R.; YAMANISHI, O. K. Características físicas e químicas de frutos de mamoeiro do grupo solo comercializado em 4 estabelecimentos de Brasília-DF. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, p. 541-545, 2001.

FARIA, J. C.; DEMÉTRIO, C. G. B. **bpca: Biplot of multivariate data based on Principal Components Analysis**. ESALQ, USP, Brasil, 2016.

FERREIRA, E. G.; MARINHO, S. J. O. Produção de frutos da mangabeira para consumo *in natura* e industrialização. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 1, n. 1, p. 9-14, 2007.

FERREIRA, E. G.; ARAÚJO, I. S.; ALVES, E. O.; COSTA, G. D.; SILVA, H. B. Caracterização molecular de mangabeira (*Hancornia speciosa*) dos tabuleiros costeiros de Pernambuco e Rio Grande do Norte no Nordeste do Brasil. **Revista Verde**, v. 8, n. 1, p. 07-10, 2013.

FERREIRA, M. E.; MORETZSOHN, M. C.; BUSO, G. S. C. Fundamentos da caracterização molecular de germoplasma vegetal. In: NASS, L. L. **Recursos genéticos vegetais**. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. p. 379-420.

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, n. 5, p. 833-841, 2012.

- FREITAS, W. E. S.; ALMEIDA, M. L. B.; MORAIS, P. L. D.; SILVA, J. R. Different 'umbu-cajá' clones fruit quality. **Científica**, v. 43, n. 3, p. 236-240, 2015.
- GANGA, R. M. D.; CHAVES, L. J.; NAVES, R. V. Parâmetros genéticos em progênies de *Hancornia speciosa* Gomes do Cerrado. **Scientia Forestalis**, v. 37, n. 84, p. 395-404, 2009.
- 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, n. 1, p. 101-113, 2010.
- GHORBEL, M.; MARGHALI, S.; TRIFI-FARAH, N.; CHTOUROU-GHORBEL, N. Phylogeny of Mediterranean *Lathyrus* species using inter simple sequence repeats markers. **Acta Botanica Gallica: Botany Letters**, v. 161, n. 1, p. 91-98, 2014.
- GOEDERT, C. O. Histórico e avanços em recursos genéticos no Brasil. In: NASS, L. L. **Recursos genéticos vegetais**. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. p. 27-33.
- GONÇALVES, L. G. V.; ANDRADE, F. R.; MARIMON JUNIOR, B. H.; SCHOSSLER, T. R.; LENZA, 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 Ciências Agrárias**, v. 36, n. 1, p. 31-40, 2013.
- GOVINDARAJ, M.; VETRIVENTHAN, M.; SRINIVASAN, M. Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: an overview of its analytical perspectives. **Genetics Research International**, p. 1-14, 2015.
- GRATIVOL, C.; MEDEIROS, C. F. L.; HEMERLY, A. S.; FERREIRA, P. C. G. High efficiency and reliability of inter-simple sequence repeats (ISSR) markers for evaluation of genetic diversity in Brazilian cultivated *Jatropha curcas* L. accessions. **Molecular Biology Reports**, v. 38, p. 4245-4256, 2011.
- GRECO, S. M. L.; PEIXOTO, J. R.; FERREIRA, L. M. Avaliação física, físico-química e estimativas de parâmetros genéticos de 32 genótipos de maracujazeiro azedo cultivados no Distrito Federal. **Bioscience Journal**, v. 30, p. 360-370, 2014.
- GROVER, A.; SHARMA, P. C. Development and use of molecular markers: past and presente. **Critical Reviews in Biotechnology**, p. 1-13, 2014.
- HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, v. 4, n. 1, p. 1-9, 2001.
- HAMRICK, J. L. Tropical breeding systems: one and done? **Heredity**, v. 109, n. 6, p. 330-331, 2012.

HANSEN, O. A. S.; CARDOSO, R. L.; FONSECA, A. A. O.; VIANA, E. S.; HANSEN, D. S.; BARRETO, N. S. E. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de néctar de mangaba. **Magistra**, v. 25, n. 2, p. 148-156, 2013.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Princípios de genética de populações**. 4ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

HOFFMANN, F. L. Fatores limitantes à proliferação de microorganismos em alimentos. **Brasil Alimentos**, v. 9, n. 1, p. 23-30, 2001.

HU, Y.; WANG, L.; XIE, X.; YANG, J.; LI, Y.; ZHANG, H. Genetic diversity of wild populations of *Rheum tanguticum* endemic to China as revealed by ISSR analysis. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, p. 264-274, 2010.

IBGE. **Produção de extração vegetal e da silvicultura**. v. 29, p. 1-56, 2014. Disponível em: [http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/74/pevs\\_2014\\_v29.pdf](http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/74/pevs_2014_v29.pdf). Acesso em: 10 de Abril de 2016.

JABBARZADEH, Z.; KHOSH-KHUI, M.; SALEHI, H.; SABERIVAND, A. Inter simple sequence repeat (ISSR) markers as reproducible and specific tools for genetic diversity analysis of rose species. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 37, p. 6091-6095, 2010.

JIANG, G. L. Molecular markers and marker-assisted breeding in plants. In: ANDERSEN, S. B. **Plant Breeding from Laboratories to Fields**. InTech, 2013. p. 45-83.

JIMENEZ, H. J.; MARTINS, L. S. S.; MONTARROYOS, A. V. V.; SILVA JUNIOR, J. F.; ALZATE-MARIN, A. L.; 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, n. 4, p. 17749-17757, 2015.

KUMAR, P., GUPTA, V, K., MISRA, A. K., D. R. MODI, D. R.; PANDEY, B. K. Potential of molecular markers in plant biotechnology. **Plant Omics**, v. 2, n. 4, p.141-162, 2009.

LÉDO, A. S.; VIEIRA NETO, R. D.; SILVA JUNIOR, J. F.; SILVA, A. V. C.; PEREIRA, A. V. **A cultura da mangaba**. Brasília: Embrapa, 2015.

LEWONTIN, R. C. The apportionment of human diversity. **Evolutionary Biology**, v. 6, p. 381-398, 1972.

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

LIMA, J. P.; FANTE, C. A.; PIRES, C. R. F.; NUNES, E. E.; ALVES, R. R.; ELIAS, H. H. S.; NUNES, C. A.; BOAS, E. V. B. V. The antioxidative potential and volatile constituents of mangaba fruit over the storage period. **Scientia Horticulturae**, v. 194, p. 1-6, 2015a.

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

LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J. L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 15, p. 65-95, 1984.

LUNA, J. V. U.; RAMOS JUNIOR, D. S. Banco de germoplasma de fruteiras nativas e exóticas. **Bahia Agrícola**, v. 7, n. 1, 2005.

MAGWAZA, L. S.; OPARA, U. L. Analytical methods for determination of sugars and sweetness of horticultural products - a review. **Scientia Horticulturae**, v. 184, p. 179-192, 2015.

MAMMADOV, J.; AGGARWAL, R.; BUYRARAPU, R.; KUMPATLA, S. SNP markers and their impact on plant Breeding. **International Journal of Plant Genomics**, v. 2012, p. 1-11, 2012.

MARINHO, D. G.; ALVIANO, D. S.; MATHEUSA, M. E.; ALVIANO, C. S.; FERNANDES, P. D. The latex obtained from *Hancornia speciosa* Gomes possesses anti-inflammatory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 135, n. 2, p. 530-537, 2011.

MARTINS, G. V.; MARTINS, L. S. S.; VEASEY, E. A.; LEDERMAN, I. E.; SILVA, E. F. Diversity and genetic structure in natural populations of *Hancornia speciosa* var. *speciosa* Gomes in Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 4, p. 1143-1153, 2012.

MATTIETTO, R. A.; LOPES, A. S.; MENEZES, H. C. Caracterização física e físico-química dos frutos da cajazeira (*Spondias mombin* L.) e de suas polpas obtidas por dois tipos de extrator. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 13, n. 3, p. 156-164, 2010.

MBA, C.; TOHME, J. Use of AFLP Markers in Surveys of Plant Diversity. **Methods in Enzymology**, v. 395, p. 177-201, 2005.

MCDERMOTT, J. M.; MCDONALD, B. A. Gene flow in plant pathosystems. **Annual review of phytopathology**, v. 31, n. 1, p. 353-373, 1993.

MOURA, C. F. H.; ALVES, R. E.; FILGUEIRAS, H. A. C.; ARAÚJO, N. C. C.; ALMEIDA, A. S. Quality of Fruits Native to Latin America for Processing: Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes). **Acta Horticulturae**, v. 2, n. 575, p. 549-554, 2002.

NARAIN, N.; FERREIRA, D. S.; ARAGÃO, G. C.; ARAGÃO, W. N. Tecnologia do processamento do fruto. In: SILVA JÚNIOR, J. F.; LÉDO, A. S. **A cultura da mangaba**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006. p. 221-232.

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, n. 8, p. 856-860, 2014.

NASS, L. L.; SIGRIST, M. S.; RIBEIRO, C. S. C.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. Genetic resources: the basis for sustainable and competitive plant breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 12, p. 75-86, 2012.

NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 70, n. 12, p. 3321-3323, 1973.

NEI, M. **Molecular Evolutionary Genetics**. Columbia University Press, New York, 1987.

NG, W. L.; TAN, S. G. Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) markers: are we doing it right? **ASM Science Journal**, v. 9, n. 1, p. 30-39, 2015.

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, n. 4, p. 15996-16005, 2015.

NYBOM, H.; WEISING, K.; ROTTER, B. DNA fingerprinting in botany: past, present, future. **Investigative Genetics**, v. 5, n. 1, p. 1-35, 2014.

OKATAN, V.; AKCA, Y.; ERCISLI, S.; GOZLEKCI, S. Genotype selection for physico-chemical fruit traits in pomegranate (*Punica granatum* L.) in Turkey. **Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus**, v. 14, n. 2, p. 123-132, 2015.

OLIVEIRA, D. L. Viabilidade econômica de algumas espécies medicinais nativas do Cerrado. **Estudos**, v. 38, n. 2, p. 301-332, 2011.

OLIVEIRA, K. S.; OLIVEIRA, M. S.; PEREIRA, E. C.; LIMA, S. C.; ALOUFA, M. A. I. Efeito de diferentes meios de cultura na germinação *in vitro* de sementes de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Revista Árvore**, v. 38, n. 4, p. 601-607, 2014.

OLIVEIRA, M. E. B.; GUERRA, N. B.; MAIA, A. H. N.; ALVES, R. E.; XAVIER, D. S.; MATOS, N. M. S. Caracterização física de frutos do pequizeiro nativos da Chapada do Araripe – CE. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, p. 1196-1201, 2009.

OLIVEIRA, V. B.; YAMADA, L. T.; FAGG, C. W.; BRANDÃO, M. G. L. Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 48, p. 170-179, 2012.

OMONDI, E. O.; DEBENER, T.; LINDE, M.; ABUKUTSA-ONYANGO, M.; DINSSA, F. F.; WINKELMANN, T. Molecular markers for genetic diversity studies in African leafy vegetables. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v. 7, p. 188-197, 2016.

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, n. 3, p. 1-7, 2015.

PINTO, C. E.; OLIVEIRA, R.; SCHLINDWEIN, C. Do consecutive flower visits within a crown diminish fruit set in mass-flowering *Hancornia speciosa* (Apocynaceae)? **Plant Biology**, v. 10, p. 408-412, 2008.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, p. 945-959, 2000.

PRIYONO; PUTRANTO, R. A. Molecular markers and their application for DNA fingerprinting and genetic diversity studies in *Coffea* species. **Menara Perkebunan**, v. 82, n. 1, p. 39-50, 2014.

QUEZADA, M.; PASTINA, M. M.; RAVEST, G.; SILVA, P.; VIGNALE, B.; CABRERA, D.; HINRICHSEN, P.; GARCIA, A. A. F.; PRITSCH, C. A first genetic map of *Acca sellowiana* based on ISSR, AFLP and SSR markers. **Science Horticulturae**, v. 169, p. 138-146, 2014.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2016. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. R.; SOUZA, E. A.; GONÇALVES, F. M. A.; SOUZA, J. C. **Genética na agropecuária**. 5ª ed. Editora UFLA, 2012.

RAPOSO, A.; MARTINS, K.; CIAMPI, A. Y.; WADT, L. H. O.; VEASEY, E. A. Diversidade genética de populações de andiroba no Baixo Acre. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 9, p. 1291-1298, 2007.

REDDY, M. P.; SARLA, N.; SIDDIQ, E. A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica**, v. 128, p. 9-17, 2002.

RODRIGUES, E. B. **Variabilidade genética populacional em variedades botânicas de *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae): estratégias para conservação no Cerrado**. 2015. Tese de Doutorado, Escola de Agronomia, UFG, Goiânia, 2015.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; SILVEIRA, M. R. S. Quality for fresh consumption and processing of some non-traditional tropical fruits from Brazil. **Fruits**, v. 64, p. 361-370, 2009.

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

SÁ, A. J.; LÉDO, A. S.; LÉDO, C. A. S. Conservação *in vitro* de mangabeira da região nordeste do Brasil. **Ciência Rural**, v. 41, n. 1, p. 57-62, 2011.

SEMAGN, K.; BJØRNSTAD, Å.; NDJIONDJOP, M. N. An overview of molecular marker methods for plants. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 25, p. 2540-2568, 2006.

SHEIDAI, M.; MOSAFERI, S.; KESHAVARZI, M.; NOORMOHAMMADI, Z.; BARAKI, S. G. Genetic diversity in different populations of *Persicaria minor* (Polygonaceae), a medicinal plant. **The Nucleus**, p. 1-7, 2016.

SILVA, A. V. C.; SANTOS, A. R. F.; WICKERT, E.; SILVA JÚNIOR, J. F.; COSTA, T. S. Divergência genética entre acessos de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 6, n. 4, p. 572-578, 2011.

SILVA, A. V. C.; SILVA JÚNIOR, J. F.; MOURA, C. F. H. LÉDO, A. S.; MENEZES, D. N. T.; VITÓRIA, M. F.; AMORIN, J. A. E. **Atributos de qualidade de funcionais de acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros**. Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2015.7 p. (Circular Técnica, 71).

SILVA, G. C.; BRAGA, F. C.; LIMA, M. P.; PESQUERO, J. L.; LEMOS, V. S.; CORTES, S. F. *Hancornia speciosa* Gomes induces hypotensive effect through inhibition of ACE and increase on NO. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137 p. 709-713, 2011.

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, n. 4, p. 1093-1100, 2013.

SILVA JUNIOR, J. F.; LÉDO, A. S. Botânica. In. SILVA JÚNIOR, J. F.; LÉDO, A. S. **A cultura da mangaba**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, p. 221-232, 2006.

SILVA JUNIOR, J. F.; XAVIER, F. R. S.; LÉDO, C. A. S.; NEVES JUNIOR, J. S.; MOTA, D. M.; SCHMITZ, H.; MUSSER, R. S.; LÉDO, A. S. Variabilidade em populações naturais de mangabeira do litoral de Pernambuco. **Magistra**, v. 19, n. 4, p. 373-378, 2007.

SILVA JÚNIOR, J. F.; LÉDO, A. S. Mangaba. Agência Embrapa de Informação Tecnológica, 2011. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/mangaba/arvore/CONT000fmnuz01602wyiv80txmlleb7gc0wj.html>>. Acesso em: 12/03/2016.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, v. 41, n. 2, p. 237-245, 1981.

SOARES, A. N. R.; MELO, M. F. V.; VITÓRIA, M. F.; SILVA, A. V. C. Physiological quality of mangaba seeds submitted to drying. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 52, p. 4808-4813, 2015.

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

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, n. 5, p. 1449-1454, 2007.

SOUZA, V. R.; PEREIRA, P. A. P.; QUEIROZ, F.; BORGES, S. V.; CARNEIRO, J. D. S. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food Chemistry**, v. 134, p. 381-386, 2012.

TIWARI, J. K.; POONAM; SAURABH, S.; DEVI, S.; ALI, N.; BHARDWAJ, V.; SINGH, B. P. Molecular characterization of potato somatic hybrids by inter simple sequence repeat (ISSR) markers. **Potato journal**, v. 42, n. 1, p. 1-7, 2015.

TOREZAN, J. M. D.; SOUZA, R. F.; RUAS, P. M. R.; RUAS, C. F.; CAMARGO, E. H.; VANZELA, A. L. L. Genetic Variability of Pre and Post-Fragmentation Cohorts of *Aspidosperma polyneuron* Muell. Arg. (Apocynaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. 2, p. 171-180, 2005.

VIANNA, L. S. Caracterização da diversidade genética de duas populações naturais de *Vochysia bifalcata* Warm no Parque Nacional do Caparaó/ES. **Nucleus**, v. 12, n. 1, p. 173-179, 2015.

VIEIRA, E. A.; FIALHO, J. F.; SILVA, M. S.; FUKUDA, W. M. G.; FALEIRO, F. G. Variabilidade genética do banco de germoplasma de mandioca da Embrapa cerrados acessada por meio de descritores morfológicos. **Científica**, v. 36, n. 1, p. 56-67, 2008.

VIEIRA NETO, R. D. **Recomendações técnicas para o cultivo da mangabeira**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2001. 26 p. (Circular Técnica, 20).

VIEIRA NETO, R. D.; CINTRA, F. L. D.; SILVA, A. L.; SILVA JÚNIOR, J. F., COSTA, J. L. S.; SILVA, A. A. G.; CUENCA, M. A. G. **Sistema de produção de mangaba para os tabuleiros costeiros e baixada litorânea**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2002. 22p.

VIJAYAN, K. Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Polymorphism and Its Application in Mulberry Genome Analysis. **International Journal of Industrial Entomology**, v. 10, n. 2, p. 79-86, 2005.

WU, F. Q.; SHEN, S. K.; ZHANG, X. J.; WANG, Y. H.; SUN, W. B. Genetic diversity and population structure of an extremely endangered species: the world's largest Rhododendron. **AoB Plants**, v. 7, p. 1-9, 2014.

YEH, F.; YANG, R.; BOYLE, T. **Microsoft window-based freeware for population genetic analysis**. Canada: University of Alberta, 1999.

**ANEXOS**

ANEXO A - Correlação de Pearson entre as variáveis físicas e químicas avaliadas em 14 acessos de mangabeira provenientes do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte.

|         | MF       | CF       | DF       | MC       | NS       | MTS     | MP      | RP      | SST      | ATT     | SST/ATT | pH     |
|---------|----------|----------|----------|----------|----------|---------|---------|---------|----------|---------|---------|--------|
| MF      | 1,0000   |          |          |          |          |         |         |         |          |         |         |        |
| CF      | 0,8106** | 1,0000   |          |          |          |         |         |         |          |         |         |        |
| DF      | 0,854**  | 0,8882** | 1,0000   |          |          |         |         |         |          |         |         |        |
| MC      | 0,8525** | 0,8776** | 0,8076** | 1,0000   |          |         |         |         |          |         |         |        |
| NS      | 0,8437** | 0,714**  | 0,8167** | 0,6539*  | 1,0000   |         |         |         |          |         |         |        |
| MTS     | 0,7102** | 0,5424*  | 0,6275*  | 0,5349*  | 0,8821** | 1,0000  |         |         |          |         |         |        |
| MP      | 0,9513** | 0,7462** | 0,7864** | 0,7838** | 0,6923** | 0,4727  | 1,0000  |         |          |         |         |        |
| RP      | 0,1724   | 0,0361   | 0,8400   | -0,0043  | -0,1550  | -0,4574 | 0,4512  | 1,0000  |          |         |         |        |
| SST     | -0,2472  | -0,2803  | -0,2740  | -0,2708  | -0,0819  | 0,1413  | -0,3618 | -0,3645 | 1,0000   |         |         |        |
| ATT     | 0,0939   | 0,1164   | 0,3530   | 0,2970   | -0,2047  | -0,3681 | 0,2345  | 0,3650  | -0,0940  | 1,0000  |         |        |
| SST/ATT | -0,2494  | -0,2851  | -0,2710  | -0,2944  | -0,0551  | 0,1843  | -0,3789 | -0,4032 | 0,9936** | -0,2058 | 1,0000  |        |
| pH      | 0,1208   | -0,1050  | -0,7800  | 0,0462   | 0,3165   | 0,3684  | 0,0029  | -0,2248 | 0,1064   | -0,3450 | 0,1435  | 1,0000 |

MF: massa do fruto; CF: comprimento do fruto; DF: diâmetro do fruto; MC: massa da casca; NS: número de sementes; MTS: massa total da semente; MP: massa da polpa; RP: rendimento da polpa; SST: sólidos solúveis totais; ATT: acidez total titulável; pH: potencial Hidrogeniônico; \*\* e \* significativo, respectivamente, a 1 e 5% de probabilidade pelo teste t.

ANEXO B – Coeficientes da distância euclidiana média mostrando a divergência genética entre os 14 acessos de mangabeira provenientes do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte.

|     | M1    | M2    | M3    | M4    | M5    | M6    | M7    | M8    | M9    | M10   | M12   | M13   | M14   | M23 |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|
| M1  | 0     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |     |
| M2  | 0,447 | 0     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |     |
| M3  | 0,582 | 0,440 | 0     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |     |
| M4  | 0,386 | 0,289 | 0,539 | 0     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |     |
| M5  | 0,292 | 0,296 | 0,603 | 0,263 | 0     |       |       |       |       |       |       |       |       |     |
| M6  | 0,440 | 0,375 | 0,494 | 0,296 | 0,403 | 0     |       |       |       |       |       |       |       |     |
| M7  | 0,380 | 0,449 | 0,708 | 0,386 | 0,268 | 0,573 | 0     |       |       |       |       |       |       |     |
| M8  | 0,273 | 0,381 | 0,441 | 0,273 | 0,328 | 0,274 | 0,408 | 0     |       |       |       |       |       |     |
| M9  | 0,300 | 0,318 | 0,480 | 0,248 | 0,279 | 0,447 | 0,329 | 0,289 | 0     |       |       |       |       |     |
| M10 | 0,364 | 0,514 | 0,720 | 0,289 | 0,340 | 0,356 | 0,414 | 0,320 | 0,414 | 0     |       |       |       |     |
| M12 | 0,544 | 0,453 | 0,507 | 0,439 | 0,489 | 0,217 | 0,686 | 0,385 | 0,576 | 0,499 | 0     |       |       |     |
| M13 | 0,274 | 0,244 | 0,523 | 0,258 | 0,186 | 0,350 | 0,348 | 0,309 | 0,249 | 0,368 | 0,479 | 0     |       |     |
| M14 | 0,338 | 0,300 | 0,573 | 0,187 | 0,180 | 0,272 | 0,325 | 0,256 | 0,313 | 0,255 | 0,403 | 0,202 | 0     |     |
| M23 | 0,318 | 0,427 | 0,646 | 0,348 | 0,209 | 0,501 | 0,178 | 0,340 | 0,297 | 0,346 | 0,593 | 0,310 | 0,282 | 0   |

ANEXO C - Coeficientes de Jaccard mostrando a similaridade genética entre os 29 acessos de mangabeira do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte.

|                  | M1   | M2   | M3   | M4   | M5   | M6   | M7   | M8   | M9   | M10  | M10 <sup>2</sup> | M12  | M12 <sup>1</sup> | M13  | M14  | M15  | M16  | M17  | M18  | M19  | M20  | M21  | M22  | M23  | M24  | M25  | M27  | M29  | M30 |
|------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------------------|------|------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|
| M1               | 1    |      |      |      |      |      |      |      |      |      |                  |      |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M2               | 0,83 | 1    |      |      |      |      |      |      |      |      |                  |      |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M3               | 0,90 | 0,83 | 1    |      |      |      |      |      |      |      |                  |      |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M4               | 0,90 | 0,83 | 0,88 | 1    |      |      |      |      |      |      |                  |      |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M5               | 0,92 | 0,84 | 0,92 | 0,89 | 1    |      |      |      |      |      |                  |      |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M6               | 0,84 | 0,82 | 0,83 | 0,82 | 0,85 | 1    |      |      |      |      |                  |      |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M7               | 0,92 | 0,84 | 0,90 | 0,93 | 0,93 | 0,82 | 1    |      |      |      |                  |      |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M8               | 0,79 | 0,79 | 0,82 | 0,74 | 0,83 | 0,79 | 0,78 | 1    |      |      |                  |      |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M9               | 0,88 | 0,83 | 0,91 | 0,83 | 0,90 | 0,85 | 0,87 | 0,83 | 1    |      |                  |      |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M10              | 0,94 | 0,83 | 0,92 | 0,92 | 0,92 | 0,82 | 0,93 | 0,79 | 0,87 | 1    |                  |      |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M10 <sup>2</sup> | 0,78 | 0,77 | 0,74 | 0,76 | 0,77 | 0,79 | 0,77 | 0,82 | 0,79 | 0,77 | 1                |      |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M12              | 0,89 | 0,86 | 0,89 | 0,88 | 0,91 | 0,84 | 0,91 | 0,82 | 0,86 | 0,89 | 0,75             | 1    |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M12 <sup>1</sup> | 0,88 | 0,77 | 0,85 | 0,82 | 0,87 | 0,80 | 0,84 | 0,80 | 0,83 | 0,86 | 0,73             | 0,87 | 1                |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M13              | 0,90 | 0,83 | 0,93 | 0,86 | 0,92 | 0,83 | 0,89 | 0,83 | 0,90 | 0,89 | 0,77             | 0,91 | 0,87             | 1    |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M14              | 0,86 | 0,81 | 0,91 | 0,83 | 0,91 | 0,80 | 0,87 | 0,85 | 0,85 | 0,87 | 0,74             | 0,89 | 0,87             | 0,91 | 1    |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M15              | 0,75 | 0,69 | 0,72 | 0,74 | 0,76 | 0,68 | 0,75 | 0,70 | 0,72 | 0,73 | 0,66             | 0,77 | 0,78             | 0,75 | 0,75 | 1    |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M16              | 0,61 | 0,61 | 0,60 | 0,64 | 0,62 | 0,63 | 0,63 | 0,58 | 0,61 | 0,62 | 0,63             | 0,65 | 0,60             | 0,63 | 0,61 | 0,65 | 1    |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M17              | 0,74 | 0,70 | 0,70 | 0,75 | 0,74 | 0,73 | 0,73 | 0,69 | 0,71 | 0,72 | 0,69             | 0,78 | 0,71             | 0,74 | 0,71 | 0,79 | 0,67 | 1    |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M18              | 0,80 | 0,75 | 0,77 | 0,78 | 0,83 | 0,75 | 0,83 | 0,73 | 0,76 | 0,80 | 0,69             | 0,85 | 0,81             | 0,80 | 0,81 | 0,77 | 0,65 | 0,75 | 1    |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M19              | 0,72 | 0,68 | 0,70 | 0,74 | 0,73 | 0,70 | 0,74 | 0,69 | 0,72 | 0,72 | 0,67             | 0,76 | 0,71             | 0,74 | 0,71 | 0,68 | 0,67 | 0,70 | 0,77 | 1    |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M20              | 0,75 | 0,75 | 0,72 | 0,76 | 0,76 | 0,78 | 0,75 | 0,72 | 0,74 | 0,75 | 0,70             | 0,78 | 0,74             | 0,76 | 0,74 | 0,66 | 0,63 | 0,70 | 0,77 | 0,71 | 1    |      |      |      |      |      |      |      |     |
| M21              | 0,75 | 0,70 | 0,74 | 0,79 | 0,77 | 0,68 | 0,78 | 0,70 | 0,73 | 0,76 | 0,68             | 0,81 | 0,74             | 0,76 | 0,77 | 0,75 | 0,63 | 0,77 | 0,80 | 0,71 | 0,70 | 1    |      |      |      |      |      |      |     |
| M22              | 0,77 | 0,72 | 0,76 | 0,77 | 0,76 | 0,70 | 0,78 | 0,72 | 0,75 | 0,77 | 0,68             | 0,81 | 0,76             | 0,76 | 0,77 | 0,77 | 0,65 | 0,72 | 0,83 | 0,78 | 0,71 | 0,80 | 1    |      |      |      |      |      |     |
| M23              | 0,88 | 0,77 | 0,86 | 0,81 | 0,86 | 0,78 | 0,83 | 0,83 | 0,84 | 0,85 | 0,73             | 0,85 | 0,89             | 0,85 | 0,87 | 0,76 | 0,57 | 0,70 | 0,81 | 0,72 | 0,74 | 0,77 | 0,80 | 1    |      |      |      |      |     |
| M24              | 0,78 | 0,73 | 0,76 | 0,77 | 0,78 | 0,74 | 0,78 | 0,70 | 0,74 | 0,77 | 0,67             | 0,82 | 0,77             | 0,79 | 0,77 | 0,74 | 0,62 | 0,73 | 0,87 | 0,73 | 0,75 | 0,76 | 0,80 | 0,78 | 1    |      |      |      |     |
| M25              | 0,74 | 0,72 | 0,73 | 0,76 | 0,75 | 0,68 | 0,78 | 0,69 | 0,72 | 0,74 | 0,66             | 0,81 | 0,74             | 0,75 | 0,75 | 0,76 | 0,66 | 0,73 | 0,85 | 0,82 | 0,70 | 0,78 | 0,88 | 0,76 | 0,84 | 1    |      |      |     |
| M27              | 0,72 | 0,69 | 0,69 | 0,71 | 0,70 | 0,65 | 0,71 | 0,63 | 0,70 | 0,70 | 0,60             | 0,74 | 0,70             | 0,72 | 0,69 | 0,68 | 0,61 | 0,71 | 0,74 | 0,73 | 0,71 | 0,71 | 0,72 | 0,72 | 0,78 | 0,78 | 1    |      |     |
| M29              | 0,74 | 0,69 | 0,72 | 0,75 | 0,75 | 0,69 | 0,73 | 0,69 | 0,73 | 0,73 | 0,63             | 0,75 | 0,75             | 0,75 | 0,74 | 0,70 | 0,62 | 0,68 | 0,82 | 0,73 | 0,74 | 0,75 | 0,81 | 0,77 | 0,82 | 0,81 | 0,72 | 1    |     |
| M30              | 0,70 | 0,69 | 0,67 | 0,72 | 0,70 | 0,68 | 0,72 | 0,66 | 0,70 | 0,70 | 0,67             | 0,72 | 0,69             | 0,71 | 0,68 | 0,68 | 0,65 | 0,68 | 0,76 | 0,80 | 0,75 | 0,73 | 0,75 | 0,71 | 0,72 | 0,77 | 0,70 | 0,76 | 1   |