

Universidade Federal do Piauí

Diversidade genética em *Spondias mombin* L. na região Meio-Norte do Brasil

Giovana Sarah Sales Batista

**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
2019**

Giovana Sarah Sales Batista
Licenciada em Ciências Biológicas

Diversidade genética em *Spondias mombin* L. na região Meio-Norte do Brasil

Orientador:

Prof. Dr. Sérgio Emílio dos Santos Valente

Co-orientadores:

Dr. Paulo Sarmanho da Costa Lima

Dr. Leonardo Castelo Branco Carvalho

**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
2019

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

B333d Batista, Giovana Sarah Sales
Diversidade genética em *Spondias mombin* L. na região Meio-Norte do
Brasil / Giovana Sarah Sales Batista – 2019.
56 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Programa de
Pós- Graduação em Genética e Melhoramento, Teresina, 2019.
Orientação: Prof. Dr. Sérgio Emílio dos Santos Valente

1. Cajá 2. Recursos genéticos 3. Variabilidade 4. ISSR I. Título

CDD 634.22

À Samara de Brito Vieira,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Não é fácil simplesmente agradecer a quem fez parte e ajudou, para mim ainda é pouco perto do que representam. Mas no presente momento o faço, por ser o mínimo que posso.

O primeiro, a quem devo tudo, é Deus. Ele é dono de toda ciência e sabedoria. Força nos momentos difíceis e luz para o caminho. Obrigada Senhor, por tamanha graça!

Agradeço a Universidade Federal do Piauí, por me proporcionar oportunidades de aprendizado e crescimento profissional. Agradeço também à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela bolsa fornecida, sendo de grande importância na minha formação.

À EMBRAPA Meio-Norte, por todo o suporte técnico necessário para a realização desse trabalho.

Por almejar me tornar uma profissional dessa área, não poderia deixar de agradecer aos meus professores por todo o conhecimento repassado e ajuda necessária. Dentre os mestres, destaco a Dra. Ângela Celis de Almeida Lopes, Dra. Ana Paula Peron, Dra. Regina Lúcia Ferreira Gomes e Dr. Fábio Barros Britto, que sabem ser o mestre-amigo e sempre nos mostrar além do que se pode ver no momento.

Agradecer também ao meu orientador Dr. Sérgio Emilio dos Santos Valente, que em muito teve paciência ao me ensinar e orientar, sempre me permitindo crescer e aprender, desde a graduação. Ao Dr. Paulo Sarmanho da Costa Lima, por me acolher tão bem na EMBRAPA, ser um orientador no real e amplo sentido da palavra, incentivador de seus alunos e com uma sensibilidade inexplicável, muito obrigada. Agradecer ao Dr. Leonardo Castelo Branco por toda disponibilidade em ensinar quantas vezes forem necessárias, sem nunca desistir.

Aos meus pais, Isaura e Giovani, que são o meu ponto de partida e minha base de apoio incondicional, o meu muito obrigado. Sei que a luta não é só minha e, portanto, o mérito é nosso!

Aos meus avós paternos (*In Memoriam*) Maria do Carmo e Francisco Batista, e aos maternos, Alzira Sales e José de Deus, por todo amor adoçado que me

forneceram e pelos bons ensinamentos que me passaram. Poucos tiveram a sorte que eu e meus primos tivemos. Em especial a Senhora Alzira de Xodó, que é a mulher mais guerreira e honesta que conheço. Meu exemplo de Mulher.

Ao meu irmão Gil Samuel, que mesmo em seu silêncio, sabe ser apoio. E nos nossos momentos de brincadeira é a pessoa mais divertida que conheço. As minhas amigas de verdade: Karen Oliveira, Andressa Oliveira e Naiane Martins, agradeço por todas as brincadeiras e também pelas conversas sérias. Pelas nossas experiências e momentos juntos. Vocês são inspiradoras. Venceremos muitas vezes (e juntas) na vida.

A uma pessoa querida, Antonio Alves Viana Neto, por sempre me motivar e inspirar a ser mais forte e dedicada. Obrigada por acreditar em mim mesmo quando eu não acreditava. Você foi essencial para que eu chegasse até aqui.

Aos meus tios, primos e familiares, que souberam compreender minhas (não tão raras) ausências por motivos acadêmicos e que sempre torceram por mim. Vocês são os amores que trago na vida.

Agradeço aos amigos de curso, em especial Marineide Amorim e Milena Rodrigues, companheiras de desespero e soluções. Agradeço a Gerson Nascimento e à Maria Fernanda da Costa Gomes, por prontamente me ajudarem quando precisei. Aos amigos conquistados na EMBRAPA Meio-Norte, em destaque Gisele Holanda, Maria dos Remédios e Aline Negreiros, que compartilham a convivência diária e tornam a rotina alegre e suportável. A Letícia Ribeiro, Aryanny Paula e Cleidiane Macêdo, quero agradecer por toda ajuda na finalização do trabalho, vocês foram a luz no fim do túnel. Aos técnicos e pesquisadores da EMBRAPA, sempre cordiais e disponíveis, tanto para ajuda nos trabalhos como conselhos. Em especial ao técnico Leonardo Furtado e ao Dr. Lúcio Flavo Lopes Vasconcelos por todo o apoio técnico-científico.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma fizeram partes desses anos acadêmicos. Todos foram de indescritível importância.

“Agir, eis a inteligência verdadeira. Serei o que quiser. Mas tenho que querer o que for. O êxito está em ter êxito, e não em ter condições de êxito. Condições de palácio tem qualquer terra larga, mas onde estará o palácio se não o fizerem ali? ”

Fernando Pessoa

SUMÁRIO

RESUMO	VIII
ABSTRACT.....	IX
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DAS TABELAS.....	XI
1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Gênero <i>Spondias</i>	14
2.2 <i>Spondias mombin</i> -Cajá	14
2.3 Cajá: importância socioeconômica	15
2.4 Caracterização molecular e marcadores ISSR.....	16
2.5 Caracterização morfológica.....	17
2.6 Análise de Componentes Principais.....	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 Material vegetal	20
3.2 Extração de DNA e amplificação de ISSR.....	21
3.3 Análise dos dados moleculares.....	22
3.4 Caracterização morfológica	23
3.5 Análise dos dados morfológicos	23
4 RESULTADOS	26
4.1 Caracterização Molecular.....	26
4.2 Caracterização Morfológica	33
5 DISCUSSÃO	38
5.1 Caracterização Molecular.....	38
5.2 Caracterização Morfológica	41
6 CONCLUSÕES	45
REFERÊNCIAS	46

RESUMO

BATISTA, G. S. S. **Diversidade genética em *Spondias mombin* L. na região Meio-Norte do Brasil** 56p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento), UFPI, Teresina, 2019.

O cajá (*Spondias mombin* L.) é uma fruta bastante apreciada por seu sabor e propriedades nutricionais e medicinais. É explorada de forma extrativista e o conhecimento e tecnologias disponíveis para a espécie ainda são escassos, dificultando sua produção em escala comercial. Assim, torna-se evidente a necessidade de estudos de caracterização e conservação dos recursos genéticos da espécie. Como estudos de caracterização genética são essenciais aos programas de melhoramento e conservação, neste trabalho avaliou-se a diversidade e estrutura genética de 31 acessos de cajá mantidos no Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte (Teresina-PI, Brasil) e dois acessos de porte anão através de marcadores ISSR e marcadores morfológicos. Para a caracterização morfológica foram avaliados cinco caracteres quantitativos do fruto e para a caracterização molecular foram utilizados 12 *primers* ISSR. Com base nos caracteres morfológicos e moleculares, verificou-se que há variabilidade genética entre os acessos de cajá analisados e que a maior parte da variação genética total foi encontrada dentro das populações (88,71%), que já era o esperado pois a maioria das espécies do gênero *Spondias* é preferencialmente alógama. Os cinco pontos de coleta não constituíram subpopulações isoladas reprodutivamente, evidenciado pelo moderado fluxo gênico (0,6268). Entre os acessos analisados, foi observada alta diversidade baseada nos índices de diversidade de Nei (0,37) e Shannon (0,55). Os caracteres massa do fruto, comprimento do fruto e massa de semente apresentaram maior contribuição para a variação. Os acessos anões e o BGC-12 foram os mais divergentes e agregam características de importância econômica, sendo recomendados para programas de melhoramento genético de cajá.

Palavras-chave: cajá, recursos genéticos, variabilidade, ISSR.

ABSTRACT

BATISTA, G. S. S. **Genetic diversity in *Spondias mombin* L. in the Mid-North region of Brazil**. 56p. Dissertation (Master of Genetics and Breeding), UFPI, Teresina, 2019.

Yellow mombin (*Spondias mombin* L.) is a fruit very appreciated for its taste and nutritional and medicinal properties. It is explored in an extractive way and the knowledge and technologies available to the species are still scarce, making it difficult to produce on a commercial scale. Thus, is evident the need for characterization and conservation studies of the genetic resources of the species. As studies of genetic characterization are essential to conservation and breeding programs, this work evaluated the diversity and structure genetic of 31 yellow mombin accessions maintained in the germplasm bank of Embrapa Meio-Norte (Teresina, PI, Brazil), and two dwarf-sized accessions by ISSR and morphological markers. For the morphological characterization, five quantitative traits of the fruit were evaluated and for the molecular characterization 12 ISSR primers were used. Based on the morphological and molecular characteristics, it was verified that there is genetic variability between the yellow mombin accessions analyzed and that most of the total genetic variation was found within the populations(88.71%), which was already expected since the majority of the species of the genus *Spondias* is preferably allogamous. The five collection points did not constitute isolated subpopulations reproductively, evidenced by the moderate gene flow (0.6268). Among the accessions, high diversity was observed based on the Nei's genetic diversity (0.37) and Shannon (0.55) index. The fruit mass, fruit length and seed mass presented the greatest contribution to the variation. The BGC-12 and the dwarf accessions were the most divergent and added characteristics of economic importance, being recommended for programs of genetic improvement of yellow mombin.

Key-words: Yellow mombin, genetic resources, variability, ISSR.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Localização dos pontos de coleta de *S. mombin* da região Meio-Norte do Brasil (MA e PI).

Figura 2 - Perfil eletroforético obtido da amplificação do DNA de 15 acessos de *S. mombin* do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte com o *primer* UBC 810. 1Kb = Marcador molecular de 1 kb. CN: controle negativo.

Figura 3 - Dendrograma gerado utilizando-se o método de agrupamento UPGMA, a partir da distância obtida por meio do coeficiente de similaridade genética de Jaccard, de 28 acessos de *S. mombin*, obtido a partir de 142 marcadores ISSR, por meio de 12 *primers*.

Figura 4 - Análise de agrupamento (UPGMA) a partir da distância genética de Nei (1972), de populações de *S. mombin*.

Figura 5 - Valores de ΔK estimados para as populações de *S. mombin*.

Figura 6 - Gráfico gerado pelo *software* Structure mostrando os acessos de *S. mombin* distribuídos em dois grupos genéticos.

Figura 7 - Dendrograma gerado utilizando-se método de agrupamento UPGMA a partir das medidas de dissimilaridade geradas pela distância euclidiana média, em razão dos dados morfológicos de frutos de 19 acessos de *S. mombin*.

Figura 8 - Gráfico *biplot* de componentes principais para os cinco caracteres avaliados em 19 acessos de *S. mombin* da região Meio-Norte do Brasil. MF: massa total do fruto; CF: comprimento do fruto; DF: diâmetro do fruto; MC: massa da casca; MS: massa da semente.

Figura 9 - Contribuição dos caracteres morfológicos para a variação dos dados. MF: massa total do fruto; CF: comprimento do fruto; DF: diâmetro do fruto; MC: massa da casca; MS: massa da semente.

Figura 10 - Análise Discriminante sob Componentes Principais de 19 acessos de *S. mombin*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Relação dos acessos de *S. mombin* estudados, locais de coleta, presença do BAG, submetidos a caracterização morfológica e molecular.

Tabela 2 – *Primers* utilizados, sequência, temperatura de anelamento, número de locos obtidos, locos polimórficos e porcentagem de polimorfismo em acessos de *S. mombin*, obtidos a partir de 142 marcadores ISSR polimórficos.

Tabela 3 - Estimativas de diversidade genética, número de migrantes e diferenciação genética de cinco populações de *S. mombin*.

Tabela 4 – Distância genética de Nei (1972) entre cinco populações de *S. mombin*.

Tabela 5 - Análise molecular de variância de cinco populações de *S. mombin*.

Tabela 6 – Quadrados médios referentes à análise de variância conjunta de 19 acessos de *S. mombin* avaliados em 5 anos.

Tabela 7 - Componentes principais da análise multivariada de caracteres morfológicos do fruto para 19 acessos de *S. mombin*.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa a terceira colocação mundial na produção de frutas, perdendo apenas para China e Índia (SEBRAE, 2015). Só na região Nordeste, a fruticultura abrange cerca de dois milhões de hectares, com 90% de fruteiras perenes (BNB, 2018). Na região Norte e Nordeste, o cajá ou taperebá (*Spondias mombin* L.) destaca-se por ser uma fruta com crescente importância econômica.

O consumo do cajá pode ser *in natura* devido a qualidade nutritiva, sabor e aroma agradáveis (SANTOS et al., 2018) ou como alimento processado, por meio da produção de sucos, geleias e sorvetes (REZENDE et al., 2018). Além disso, extratos de partes de cajá são usados na medicina popular no tratamento de várias doenças (NWIDU et al., 2018).

Apesar do crescente potencial econômico apresentado pela espécie, o conhecimento e tecnologias disponíveis ainda são escassos, dificultando sua produção em escala comercial (SACRAMENTO; SOUZA, 2009) e, por isso, a exploração dos frutos de cajá é realizada de forma extrativista. Desse modo, torna-se evidente a necessidade de estudos de caracterização dos recursos genéticos da espécie.

A avaliação da diversidade genética presente em uma espécie é um pré-requisito para o desenvolvimento de programas de conservação sustentável (BUHROO et al., 2018). Os bancos de germoplasma são ferramentas importantes de conservação e fontes de diversidade genética para programas de melhoramento. Dessa forma, é importante um estudo de caracterização de genótipos presentes ou a serem introduzidos nos bancos, para que o máximo da variabilidade genética seja conservada com o mínimo de redundância e duplicação.

Marcadores genéticos são importantes no campo de conservação de recursos genéticos de plantas. Marcadores morfológicos podem distinguir visualmente caracteres de importância agrônômica de acessos de uma mesma espécie, permitindo diferenciá-los e estimar a variabilidade genética existente (NADEEN et al., 2017; PUERTA; PERÉZ, 2018). Entretanto, através dos avanços da biologia molecular, tornou-se possível a avaliação da diversidade genética diretamente ao nível de DNA, com a obtenção de um número ilimitado de marcadores cobrindo todo o genoma (LIMA, E. et al., 2015).

Diversos estudos realizados com marcadores ISSR e marcadores morfológicos demonstraram a eficiência dessas ferramentas na análise da variabilidade genética em populações de cajá (SILVA et al., 2017a; SILVA et al., 2017b; FREITAS et al., 2018; MARQUES et al., 2018).

A análise das relações genéticas e da variabilidade existente entre os genótipos possibilita traçar estratégias de manejo e conservação. Na Embrapa Meio-Norte há um Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de fruteiras, onde estão presentes acessos de cajá coletados na região Meio-Norte do Brasil, em que conhecimento acerca da variabilidade existente ainda é incipiente. Com base nisso, o objetivo do presente estudo foi caracterizar, por meio de marcadores moleculares ISSR e morfológicos do fruto, acessos de cajazeiras da região Meio-Norte do Brasil.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Gênero *Spondias*

Pertencente à família Anacardiaceae, o gênero *Spondias* é amplamente distribuído nos neotrópicos. Foi o primeiro gênero da família a ser descrito por Lineu, com a espécie *S. mombin* sendo publicada em 1953 (MITCHELL; DALY, 2015). No Brasil, há a ocorrência de 6 das 18 espécies descritas, espalhadas por todo o território, com ampla ocorrência na região Norte-Nordeste (SANTOS et al., 2017).

O gênero *Spondias* compreende espécies de fruteiras tropicais, exploradas por meio da agricultura familiar e comercializadas localmente (REZENDE et al., 2018). Dentre as espécies com importância econômica, destacam-se *S. mombin* (cajá), *S. cytherea* Sonn. (cajarana), *S. tuberosa* Arr. Câm. (umbu), *S. purpurea* L. (siriguela), *Spondia* sp. (umbu-cajá e umbuguela). A presença de supostos híbridos e espécies com pouca diferenciação morfológica fazem com que a taxonomia do gênero não seja precisa (SILVA, J. et al., 2015). Os frutos desse gênero são bastante populares e empregados pela indústria alimentícia por apresentar boa aparência e sabor agradável, além de ser uma boa fonte de nutrientes (LIMA; OLIVEIRA; BRITO, 2016).

As espécies desse gênero apresentam vários bioativos que são utilizados em medicamentos para o tratamento de numerosas doenças, incluindo dor de estômago, anemia, disenteria e infecções (SAMEH et al., 2018). Com o aumento da comercialização, despertou-se o interesse e a necessidade da melhoria de seus produtos bem como estudos etnobotânicos em busca de princípios ativos com potencial farmacológico (SILVA et al., 2018).

2.2 *Spondias mombin* - Cajá

S. mombin é uma espécie frutífera de hábito arbóreo, podendo atingir cerca de 25 metros. No Brasil, apresenta ampla distribuição nas regiões Norte, Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste, sendo a Amazônia e a Mata Atlântica os prováveis pontos de dispersão da espécie (SOUZA et al., 2000). A espécie também é encontrada nas regiões tropicais da África e da Ásia (SAMPAIO et al., 2018).

É uma espécie ainda em domesticação, que apresenta folha caducas e um tronco que apresenta uma casca rugosa e grossa (SOUZA et al., 2006). Seus frutos são do tipo drupa, com comprimento de 3 a 4 cm, formato ovoide, polpa fina, cor

amarelo-alaranjada e sabor ácido (LOURENÇO et al., 2018), apresentando composição média de 51% para a polpa, 33% para as sementes e 16% de casca (ANDRADE et al., 2018).

O cajá é uma fruta rica em carotenoides, açúcar e vitaminas A e C (GONÇALVES, N. et al., 2018). Devido aos elevados teores de ferro e zinco é um bom agente antianêmico e antidiabético (ESUA et al., 2016). Além dos frutos, as folhas são ricas em fitoquímicos, vitaminas e minerais essenciais que podem constituir uma fonte de alimentos e drogas (NJOKU; AKUMEFULA, 2007).

A cajazeira pode ser propagada sexuadamente (por sementes) e de forma assexuada. A propagação via semínifera é lenta e não uniforme, podendo chegar aos dois anos (MARTINS et al., 2019), o que leva a um prolongamento no tempo para a frutificação (SILVA, C. et al., 2015), mas apresenta a vantagem de aumentar a variabilidade genética, sendo vantajosa ao melhoramento genético. Porém, a propagação vegetativa do cajá permite que o patrimônio genético da planta-mãe esteja no clone, além da diminuição no estágio juvenil e tempo para frutificação (SACRAMENTO; SOUZA, 2009), sendo mais vantajosa para a implementação de pomares comerciais.

2.3 Importância socioeconômica

O cajá é explorado em pomares domésticos ou mal conduzidos, tendo o aumento de sua comercialização devido o fácil acesso (SANTOS et al., 2018). O conhecimento da cadeia produtiva da espécie ainda é incipiente, havendo dificuldade na elaboração de um sistema de produção (SOUZA; COSTA; LIMA, 2006). Nas regiões Norte e Nordeste, por ser uma das frutas nativas mais apreciadas, apresenta grande importância socioeconômica (SILVA et al., 2017a).

Seus frutos são vendidos no acostamento de estradas, em feira de pequenos produtores e em redes de supermercados. Além do fruto, a sua madeira também apresenta interesse comercial, sendo usada na fabricação de caixas (SACRAMENTO; SOUZA, 2009).

Na medicina tradicional, a casca do caule, folhas e raízes, têm sido usadas como fitoterápicos para o tratamento de várias enfermidades. Há evidências preliminares de atividades hepato-protetoras e antioxidante em extratos da folha e do

caule (NWIDU et al., 2018). Compostos isolados de extrato da casca do caule de cajá são agentes nefrotóxicos, anti-inflamatórios e antioxidantes naturais (OSUNTOKUN et al., 2017)

O extrato das folhas apresenta atividade antimicrobiana e também moduladora de antibióticos (SILVA et al., 2014). E também podem ser utilizados como pesticida contra o *Aedes aegypti* (AJAEGBU et al., 2016). Além disso, detectou-se três compostos candidatos ao desenvolvimento de novos fármacos para doenças como o Alzheimer (ELUFIOYE et al., 2017). O extrato hidroetanólico produziu efeitos ansiolíticos e antidepressivos (SAMPAIO et al., 2018).

2.4 Caracterização molecular e marcadores ISSR

Os marcadores moleculares são regiões no DNA que propiciam a identificação genética entre dois ou mais organismos e são herdados geneticamente (SCHNEIDER et al., 2018). Tais marcadores detectam a variabilidade genética com base no polimorfismo encontrado na sequência de DNA dos indivíduos (GROVER; SHARMA, 2014). Mutações pontuais do tipo inserção, deleção e duplicação são a base desses polimorfismos (NADEEM et al., 2017).

Nas últimas décadas, os marcadores moleculares foram úteis em estudos de diversidade genética, conservação, estudos filogenéticos, marcação de genes, mapeamento do genoma e biologia evolutiva (ECHEVERRIGARAY et al., 2016). Na estimativa de diversidade genética, os marcadores moleculares são aplicados para aumentar a compreensão da distribuição e extensão da variação genética dentro e entre as espécies (MONDINI; NOORANI; PAGNOTTA, 2009)

As técnicas moleculares podem ser ferramentas úteis na caracterização de genótipos presentes em bancos de germoplasma, subsidiando programas de melhoramento, além de auxiliar na conservação da variabilidade genética entre plantas de uma mesma espécie (YAMAMOTO et al., 2017).

Os marcadores moleculares não sofrem influência ambiental, não dependem do estágio de desenvolvimento e nem da expressão de um determinado fenótipo (SOUZA, 2015). Devido a tais características, as técnicas moleculares aceleram a análise e seleção de genótipos de interesse, principalmente no caso de espécies perenes (SILVA et al., 2017b).

Dentre os marcadores, destacam-se os baseados em regiões presentes entre sequências simples repetidas, os ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*). Os ISSR são reprodutíveis, simples, baratos e rápidos, além de não exigir o conhecimento prévio do genoma estudado (BARUAH et al., 2017). A alta reprodutibilidade desses marcadores deve-se ao comprimento do *primer* e à alta especificidade alcançada pela temperatura de anelamento (MENGXUE et al., 2018), dificultando um pareamento inespecífico com o DNA molde devido ao maior número de ligações entre os nucleotídeos durante o anelamento. Por serem baseados a partir de regiões que contêm microssatélites e devido à abundância dessas, é possível analisar um grande número de locos polimórficos, mesmo em genótipos altamente relacionados (BUHROO et al., 2018).

Para o gênero *Spondias*, foram realizados estudos de diversidade genética por meio de marcadores moleculares (SANTOS; RODRIGUES; ZUCCHI, 2008; SANTANA et al., 2011; YAMAMOTO et al., 2017). Enquanto que para *S. mombin*, estudos de caracterização molecular já foram realizados com marcadores isoenzimáticos (SILVA; MARTINS; OLIVEIRA, 2009), marcadores RAPD (LIMA et al., 2011; GOIS et al., 2014) e marcadores ISSR (SILVA et al., 2017b).

S. mombin apresenta valor econômico, havendo a necessidade do desenvolvimento de estratégias para a conservação da variabilidade genética, evitando perdas genéticas e promovendo perspectivas de ganhos com o melhoramento. Uma caracterização baseada em marcadores moleculares poderá ampliar o conhecimento da diversidade dessa espécie e subsidiar programas de melhoramento genético.

2.5 Caracterização Morfológica

A exploração intensa, o uso pelo agronegócio e a ocupação urbana são causas da perda na diversidade de espécies arbóreas (RIBEIRO et al., 2016). Uma forma de conservar os recursos genéticos é por meio dos bancos de germoplasma. Para uma conservação efetiva, um banco deve guardar uma variabilidade mínima que possa representar uma espécie, contendo um número satisfatório de indivíduos (GONÇALVES, M. et al., 2018).

A análise de diversidade genética de um banco de germoplasma é primordial para a seleção de genótipos mais promissores, tanto para o cultivo como para a efetiva

conservação desse material (OLIVEIRA et al., 2017). Essa identificação possibilita mensurar a dissimilaridade existente de genótipos contrastantes permitindo a exploração da heterose ou vigor híbrido (GRIGOLO et al., 2018).

O estudo da variabilidade genética, por meio de marcadores morfológicos, é importante para distinguir espécies de plantas e até mesmo variações dentro da mesma espécie, com a vantagem de ser simples e pouco onerosa (PRAJAPATI et al., 2018). A análise de diversidade morfológica pode incluir características de importância para o germoplasma, como tipo de grãos, hábito de crescimento ou caracteres físicos do fruto (cor, tamanho e forma) assim como os constituintes físico-químico na polpa que interessam ao consumidor (DUTRA et al., 2017).

Foram realizados estudos com marcadores morfológicos de frutos em espécies do gênero *Spondias* (LIMA, M. et al., 2015; ASTUDILLO et al., 2017; YAMAMOTO et al., 2017), assim como na caracterização de frutos de *S. mombin* baseados em marcadores morfológicos (PINTO et al., 2003; SILVA et al., 2014; SILVA et al., 2017a)

A partir dos caracteres morfológicos do fruto, podemos destacar características agrônômicas de interesse nos genótipos estudados. Assim, devido ao aumento do consumo de frutos de cajazeira e a escassez de pomares comerciais, a disponibilização de estudos de caracterização de frutos poderão levar à identificação de genótipos promissores para serem utilizados em programas de melhoramento genético.

2.6 Análise de Componentes Principais

A análise de componentes principais (ACP) é um dos pilares da análise de dados moderna. Foi formulada primeiramente por Pearson (1901), enquanto Hotelling (1933) desenvolveu a ACP utilizada atualmente. A partir dessa reformulação, passou a ser redescoberta em campos científicos diversos (WOLD; ESBENSEN; GELADI, 1987), porém apenas quando os computadores se tornaram amplamente disponíveis, é que foi viável usá-los em conjunto com grandes quantidades de dados (JOLLIFFE; CADIMA, 2016).

A ACP é uma análise multivariada, assim, possibilita análise de um grande número de dados disponíveis. Consiste principalmente na transformação de um conjunto de caracteres em um novo conjunto, onde cada nova variável será uma

combinação linear dos originais (BOUROCHE; SAPORTA, 1982), que são classificadas em ordem decrescente de variação explicada (MOITA-NETO, 1998).

Seu uso em estudos de diversidade reside na possibilidade de resumir o conjunto de variáveis originais em componentes principais, onde o comportamento dos genótipos explicados em um espaço v -dimensional (v = variáveis), poderá ser explicado em um espaço bi ou tridimensional (CRUZ; FERREIRA; PESSONI, 2011). Tal redução está baseada na identificação dos componentes principais nos quais a variação é máxima (RINGNÉR, 2008), onde a principal vantagem da ACP é manter o máximo de informação em um menor número de componentes principais (SILVA; SBRÍSSIA, 2010)

Por meio da ACP também é possível avaliar a importância de cada variável original utilizada sobre a variação total. Pois as variáveis que apresentarem maior peso dentro da combinação linear nos primeiros componentes principais, são as mais importantes estatisticamente (MOITA-NETO, 1998). Os caracteres que apresentam pouquíssima contribuição para a variação podem ser descartados, reduzindo mão-de-obra, tempo e custo do experimento.

Vários estudos de diversidade genética foram realizados baseados em marcadores morfológicos utilizando a análise de componentes principais (GALATE et al., 2012; VARGAS et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2015). Para *S. mombin* há também trabalhos realizados com a utilização de ACP para estudos de diversidade genética (PINTO et al., 2003; SILVA et al., 2017a).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal

Foram utilizados 33 acessos de cajá, sendo 31 provenientes do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Meio-Norte, localizado em Teresina-PI, coletados em cinco cidades do Piauí (Altos, Demerval Lobão, Eliseu Martins, Itaueira e Teresina) e em uma cidade do Maranhão (Timon); e mais dois acessos de porte anão coletados em uma propriedade rural do município de Teresina (Figura 1).

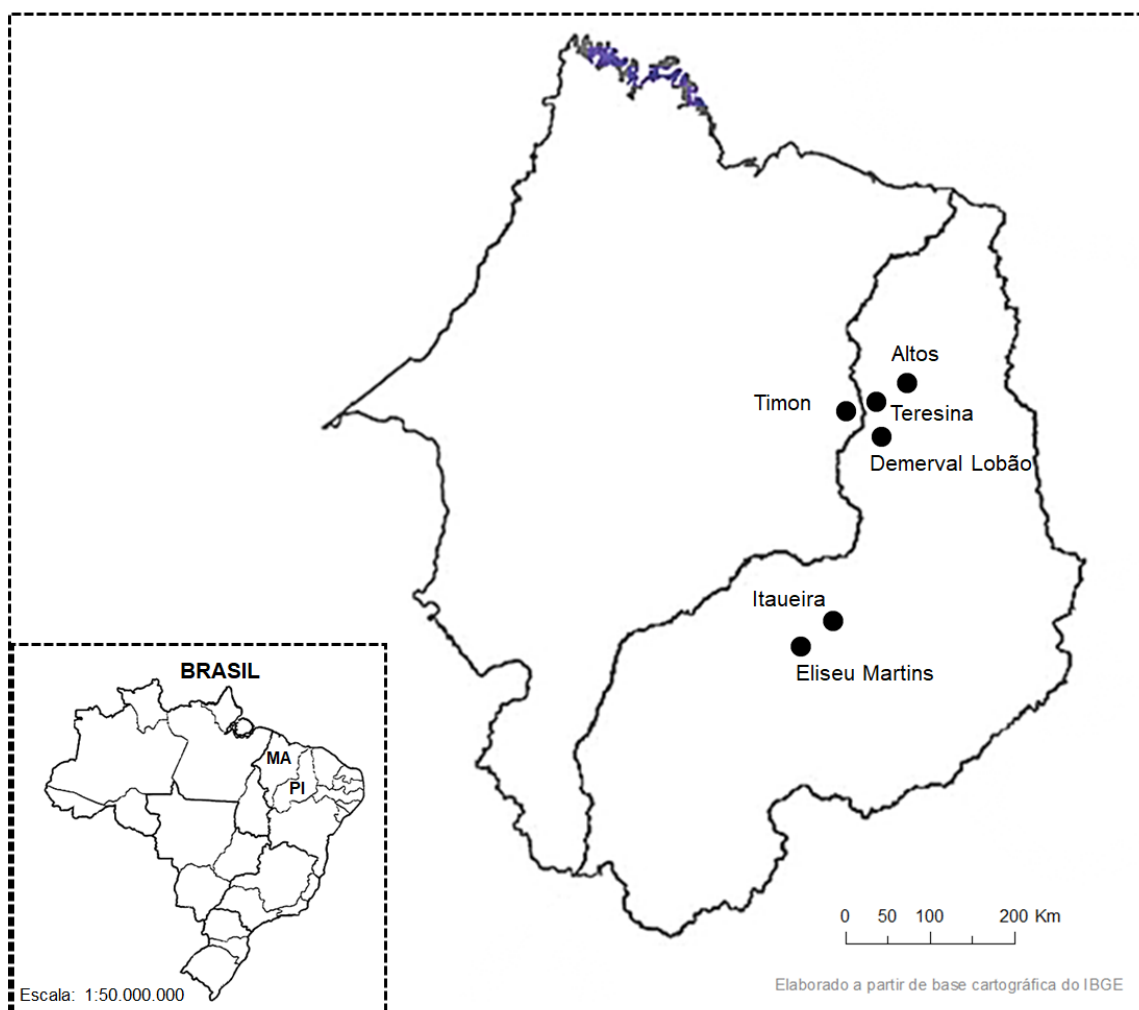


Figura 1 - Localização dos pontos de coleta de *S. mombin* da região Meio-Norte do Brasil (MA e PI).

Os acessos foram caracterizados molecular e morfológicamente (Tabela 1). Para a caracterização morfoagronômica foram utilizados 19 acessos com dados coletados nos anos de 2010 a 2014, enquanto que na caracterização molecular analisou-se 28 acessos.

Tabela 1 – Relação dos acessos de *S. mombin* estudados, locais de coleta, presença do BAG, submetidos a caracterização morfológica e molecular.

Acesso	Locais de Coleta
BGC 01 ^(1,2)	Itaueira – PI
BGC 02 ^(1,2) , BGC 03 ^(1,2,3) e BGC 13 ^(1,2,3)	Timon – MA
BGC 04 ^(1,2,3) , BGC 05 ^(1,2,3) e BGC 06 ^(1,2)	Altos – PI
BGC 08 ^(1,2)	Eliseu Martins – PI
BGC 07 ^(1,2,3) , BGC 09 ^(1,3) , BGC 10 ^(1,2,3) , BGC 11 ^(1,2,3) , BGC 12 ^(1,2,3) , BGC 14 ^(1,2,3) , BGC 15 ^(1,2,3) , BGC 17 ^(1,3) , BGC 18 ^(1,3) , BGC 19 ^(1,3) , BGC 20 ^(1,3) , BGC 21 ^(1,3) , BGC 22 ^(1,2,3) , BGC 23 ^(1,2,3) , BGC 24 ^(1,3) , BGC 25 ^(1,3) , BGC 26 ^(1,2,3) , BGC 27 ^(1,3) , BGC 28 ^(1,3) , BGC 29 ^(1,2,3) , BGC 30 ^(1,2) , P1 ⁽³⁾ e P8 ⁽³⁾	Teresina – PI
BGC 31 ^(1,3) e BGC 32 ^(1,3)	Demerval Lobão

1: Presentes no BAG da Embrapa Meio-Norte. 2: Caracterização morfológica. 3: Caracterização molecular.

3.2 Extração de DNA e amplificação de ISSR

Folhas jovens foram coletadas, armazenadas em isopor com gelo, transportadas para o Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Meio-Norte e posteriormente estocadas a -20 °C. O DNA genômico total foi extraído por Lima et al. (2011) a partir de 100 mg de folhas por meio de Kit Comercial DNeasy Plant Mini da QIAGEN, seguindo o protocolo sugerido pelo fabricante. Após a extração, o DNA foi ressuspensão em tampão TE e mantido a -20 °C.

O DNA extraído foi quantificado em gel de agarose a 0,8% em tampão TBE 0,5X (0,0445M Tris; 0,0445M Ácido Bórico; 0,001M EDTA; Ph 8,0), por meio de eletroforese a 50 Volts durante uma hora e corado com GelRed (Biotium). O gel foi submetido à luz ultravioleta para estimar a concentração de DNA por µl comparando-se com um DNA λ de 20ng/µl (Invitrogen).

Analisou-se, também, a concentração e a pureza do DNA por meio de espectrofotometria em Nanodrop 2000 (Thermo Scientific). Após a quantificação, as

amostras de DNA foram diluídas em água ultrapura autoclavada, padronizadas para uma concentração de 7ng/μl e armazenadas a -20 °C.

Para a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foram testados 50 *primers* desenvolvidos pela *University British of Columbia* (UBC) em quatro indivíduos selecionados aleatoriamente. Selecionou-se os *primers* que geraram um maior número de locos polimórficos e com boa resolução das bandas.

As reações da PCR foram realizadas em Termociclador 2720 Thermal Cycler (Applied Biosystems) conforme os seguintes parâmetros: um passo inicial de desnaturação a 94 °C durante 1 minuto, seguido de 40 ciclos a 94 °C durante 40 segundos, anelamento com temperatura variável para cada *primer* por 45 segundos, a 72 °C por 2 minutos e por 7 minutos a 72 °C de um ciclo de extensão final.

As reações de amplificação continham: tampão 1X [20 Mm Tris HCl, Ph 8,0; 0,1 Mm EDTA; 1 Mm EDTA; 1 Mm DTT; 50% (v/v) glicerol], MgCl₂ a 2,0 Mm, 0,8 Mm de Dntp, 0,8 Mm de *primer*, 1 U de Taq DNA polimerase (Invitrogen), 1 μl de DNA genômico (7 ng/μl) e de água ultrapura, em um volume final de 10 μl.

Os produtos da PCR foram analisados em géis de agarose a 1,5% com tampão TBE 0,5X (0,0445M Tris; 0,0445M Ácido Bórico; 0,001M EDTA; Ph 8,0), por meio de eletroforese submetida a 110V durante 4 horas, corados com GelRed e visualizados sob luz ultravioleta. Os tamanhos de produtos de amplificação foram identificados quanto ao peso molecular e, para a diferenciação do padrão de bandas, utilizou-se os marcadores de 100bp e 1Kb (KASVI)

3.3 Análise dos dados moleculares

A partir dos fragmentos amplificados, construiu-se uma matriz binária onde a presença e ausência da banda foram representadas, respectivamente, por 1 e 0. Considerou-se apenas as bandas que apresentaram maior intensidade e melhor resolução.

Por meio da matriz binária foi obtida a matriz de distâncias utilizando o coeficiente de similaridade genética de Jaccard para a construção de um dendrograma pelo método de agrupamento UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* – Método de Grupo de Pares por Médias Aritméticas não

Ponderadas) com auxílio da plataforma estatística R (R CORE TEAM, 2017), utilizando o pacote “pvclust”.

Os parâmetros de diversidade genética foram estimados a partir do programa POPGENE v. 1.32 (YEH, YANG e BOYLE, 1999), sendo eles: percentual de locos polimórficos, índice de diversidade de Nei (H) (NEI, 1987), índice de diversidade de Shannon (I) (LEWONTIN, 1972), número de migrantes (Nm) a partir da estimativa de G_{ST} e agrupamento das populações pelo método UPGMA baseado na distância genética de Nei (1972). A distribuição da variabilidade genética entre e dentro das populações foi estimada por meio da análise de variância molecular (AMOVA) utilizando o programa ARLEQUIN v. 3.5.1.2 (EXCOFFIER; LISCHER, 2010).

A análise de estruturação populacional foi obtida utilizando-se o programa Structure v. 2.3.4 (PRITCHARD; STEPHENS; DONNELLY, 2000). Adotou-se o modelo de mistura com frequências alélicas correlacionadas, de modo que foram realizadas 10 corridas independentes para cada valor de K, que variou de 1 a 10; com 1.000.000 de simulações em MCMC (*Markov Chain Monte Carlo*) e 500.000 gerações *burnin*. O K mais provável foi determinado através dos valores de ΔK conforme a metodologia de Evanno, Regnaut e Goudet (2005) obtidos no Structure Harvester v. 0.6.9 (EARL; VONHOLDT, 2012) e por meio do método da entropia cruzada (FRICHOT; FRANÇOIS, 2015).

3.4 Caracterização morfológica

A caracterização dos frutos foi realizada no Laboratório de Pós-colheita da Embrapa Meio-Norte, Teresina-PI, no período de 2010 a 2014. Foram analisados 10 frutos de cada acesso em cada ano, através de cinco caracteres morfológicos: massa do fruto (MF); massa da casca (MC) e massa da semente (MS) em gramas, utilizando-se balança de precisão; e comprimento do fruto (CF) e diâmetro do fruto (DF) em milímetros, com auxílio de paquímetro.

3.5 Análise dos dados morfológicos

Para verificar a presença de variação fenotípica entre os genótipos observando cada característica, inicialmente foram realizadas Análises de Variância (ANAVA) individuais (por ano), considerando o modelo estatístico:

$$Y_{ij} = m + g_i + r_j + e_{ij}$$

Em que:

Y_{ij} : Observação do caráter em questão considerando o genótipo i na repetição j ;

m : média geral;

g_i : efeito do genótipo i ;

r_j : efeito da repetição j ;

e_{ij} : erro aleatório.

Em seguida, foi realizada uma análise de variância conjunta para cada caráter considerando todos os anos de avaliação:

$$Y_{ijk} = m + g_i + r_{j(k)} + a_k + g_{aik} + e_{ijk}$$

Em que:

Y_{ijk} : Observação do caráter em questão considerando o genótipo i na repetição j no ano k ;

m : média geral;

g_i : efeito do genótipo i ;

$r_{j(k)}$: efeito da repetição j no ano k ;

a_k : efeito do ano k ;

g_{aik} : efeito da interação entre o genótipo i e o ano k

e_{ijk} : erro aleatório.

Para estimar as distâncias entre os genótipos, foi usada a distância euclidiana considerando as médias das características entre os anos avaliados. As relações genéticas entre os acessos analisados foram visualizadas em um dendrograma obtido pelo método UPGMA. A consistência dos ramos formados foi testada por 10000 simulações *bootstrap* e foi aplicada a correlação cofenética para verificar o grau de ajuste entre os dendrogramas obtidos e as matrizes de distância calculadas.

Efetou-se a análise de componentes principais visando verificar a distribuição entre os genótipos e a importância relativa de cada caráter. Com base nas

informações de passaporte de cada acesso (Anexo A), a estruturação morfológica foi testada por meio da Análise Discriminante sob Componentes Principais (ADCP).

Todas essas análises foram realizadas através da plataforma estatística R (R CORE TEAM, 2017), utilizando os pacotes: “ape”, “adeget”, “factoextra”, “pvclust”.

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização Molecular

Foram selecionados 12 *primers* que geraram bandas polimórficas e com boa resolução e que foram polimórficos. A partir desses *primers* foram gerados 161 fragmentos, dos quais 142 foram polimórficos (88,75%). O *primer* UBC-842 gerou o maior número de locos polimórficos, enquanto os *primers* UBC-808 e UBC-856 forneceram o menor número (Tabela 2).

Tabela 2 – *Primers* utilizados, sequência, temperatura de anelamento, número de locos obtidos, locos polimórficos e porcentagem de polimorfismo em acessos de *S. mombin*, obtidos a partir de 142 marcadores ISSR polimórficos.

<i>Primer</i>	Sequência 5'-3'	Ta (°C)	Total de Locos	Locos polimórficos	Polimorfismo (%)
UBC 807	(AG) ₈ T	48	11	11	100,00
UBC 808	(AG) ₈ C	50	8	8	100,00
UBC 810	(GA) ₈ T	48	16	14	87,50
UBC 811	(GA) ₈ C	50	13	10	73,92
UBC 826	(AC) ₈ C	55	16	16	100,00
UBC 827	(AC) ₈ G	54	13	09	69,23
UBC 836	(AG) ₈ YA	54	13	12	93,30
UBC 842	(GA) ₈ YG	52	18	17	94,44
UBC 856	(AC) ₈ YA	55	10	08	80,00
UBC 857	(AC) ₈ YG	53	12	12	100,00
UBC 890	VHV (GT) ₇	55	15	12	80,00
UBC 891	HVH (TG) ₇	54	15	13	86,66
Média			13,41	11,83	88,75
Total			161	142	

Ta: Temperatura de anelamento. A: adenina; T: timina; G: guanina; C: Citosina; Y: C ou T; V: A, G ou C; H: A, C ou G.

Os padrões de bandas obtidos, usando-se o *primer* UBC 810, são mostrados na Figura 2.

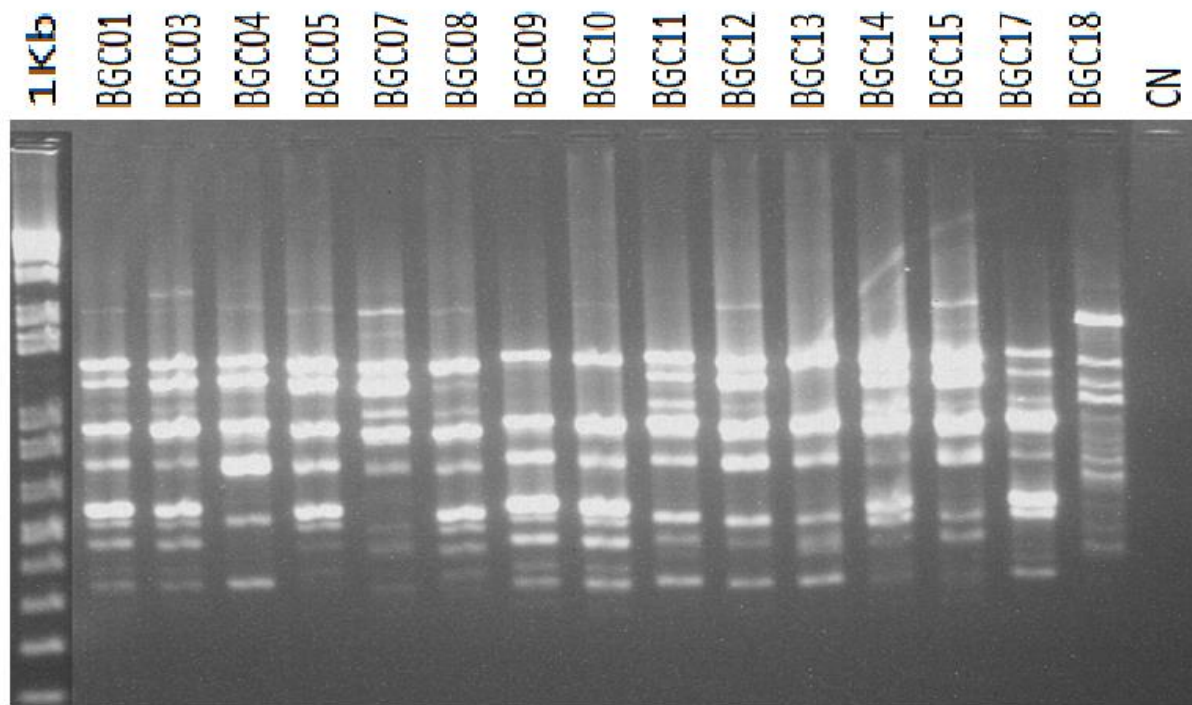


Figura 2 – Perfil eletroforético obtido da amplificação do DNA de 15 acessos de *S. mombin* do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte com o *primer* UBC 810. 1Kb = Marcador molecular de 1 kb. CN: controle negativo.

Os valores das distâncias genéticas obtidas a partir do coeficiente de similaridade genética de Jaccard entre os 28 acessos (Anexo B) variaram de 0,27 entre os acessos BGC-27 e BGC-28 (Teresina) a 0,84 entre os acessos P8 (porteirão) e BGC 25 (Teresina).

Adotando-se a distância média (0,52) como ponto de corte, houve a formação de cinco grupos correspondentes às populações de cajazeiras (Figura 3). O coeficiente de correlação cofenética ($r = 0,88$) demonstrou boa correlação entre os grupos obtidos pelo dendrograma e as distâncias reveladas pela matriz de distância genética.

Os genótipos não se agruparam de acordo com os locais de coleta, indicando que a distribuição geográfica pode não ser o principal fator que caracterizou a estrutura populacional. Dos cinco grupos formados, quatro são compostos por genótipos isolados (P1, P8, BGC-04 e BGC-14). O Grupo V, foi composto pela maioria dos genótipos (86,66%), tendo representantes das populações de Teresina, Timon, Demerval Lobão e Altos.

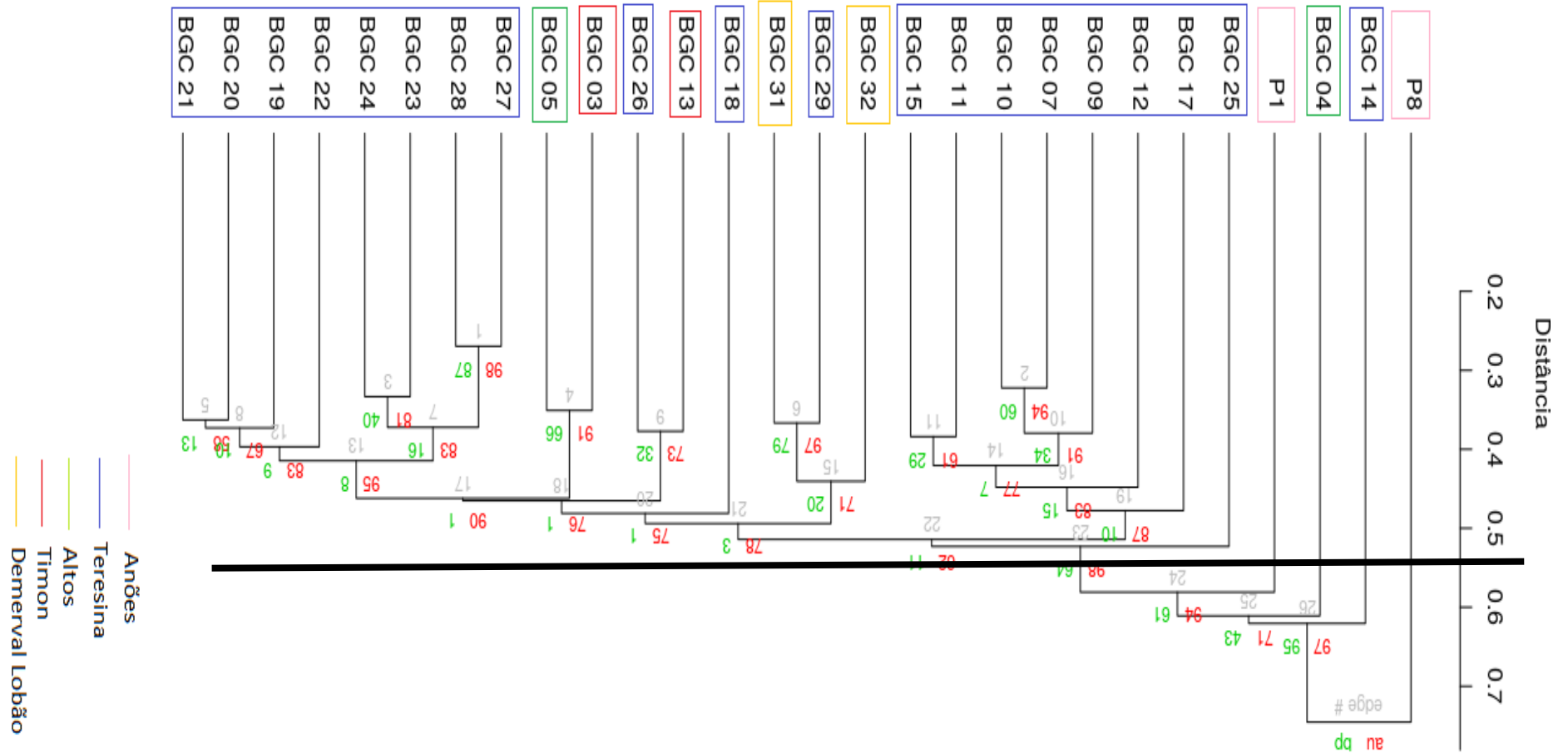


Figura 3 – Dendrograma gerado utilizando-se o método de agrupamento UPGMA, a partir da distância obtida por meio do coeficiente de similaridade genética de Jaccard, de 28 acessos de *S. mombin*, obtido a partir de 142 marcadores ISSR, por meio de 12 *primers*.

O maior percentual de locos polimórficos foi encontrado na população de Teresina (93,17%) e o menor na população do município de Demerval Lobão (26,71%), porém foi de 99,39% no nível de espécie. O índice de diversidade de Nei (H) variou de 0,13 a 0,35. O índice de Shannon (I) oscilou de 0,18 a 0,51. As médias dos índices de diversidade genética para todos os acessos foram $H = 0,37$ e $I = 0,55$ (Tabela 3). A análise de número de migrantes (Nm) indicou a ocorrência de 0,6268 migrantes por geração, sugerindo um moderado fluxo gênico entre as populações.

Tabela 3 – Estimativas de diversidade genética, número de migrantes e diferenciação genética de cinco populações de *S. mombin*.

POPULAÇÃO	H	I	LP	PLP (%)	Nm
Timon – MA	0,16	0,22	52	32,20	
Altos – PI	0,19	0,27	64	39,75	
Teresina – PI	0,35	0,51	150	93,17	
Demerval Lobão – PI	0,13	0,18	43	26,71	
Teresina Anões – PI	0,22	0,30	71	44,10	
Todas as populações	0,37	0,55	160	99,39	0,6268

H = índice de diversidade de Nei; I = índice de diversidade de Shannon; LP = número de locos polimórficos; PLP = percentual de locos polimórficos; Nm = número de migrantes.

Através da distância genética de Nei (1972) entre as populações, foi encontrado o maior valor entre a população de cajá de porte anão e a população de Timon. Observou-se que as populações são geneticamente próximas, uma vez que as combinações entre as populações apresentaram valores de distância sempre abaixo de 50% (Tabela 4).

Tabela 4 – Distância genética de Nei (1972) entre cinco populações de *S. mombin*.

Populações	Distância Genética
Timon / Teresina	0,13
Timon / Altos	0,16
Timon / Demerval Lobão	0,29
Timon / Teresina (anões)	0,41
Teresina / Altos	0,15
Teresina / Demerval Lobão	0,13
Teresina / Teresina (anões)	0,25
Altos / Demerval Lobão	0,36
Altos / Teresina (anões)	0,35
Demerval Lobão – Teresina (anões)	0,27

A partir da distância genética obteve-se um agrupamento pelo método UPGMA (Figura 4), com a formação de quatro grupos. As combinações entre as populações de Teresina com Demerval Lobão e Timon apresentaram a menor distância genética.

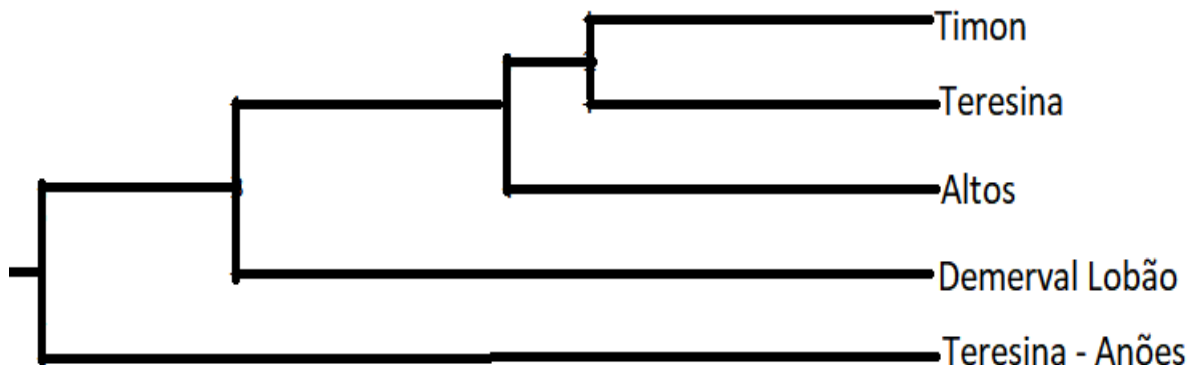


Figura 4 – Análise de agrupamento (UPGMA) a partir da distância genética de Nei (1972), de populações de *S. mombin*.

Os resultados obtidos pela Análise Molecular de Variância (AMOVA) revelaram que a maior parte da variabilidade genética (88,71%) se encontra dentro das populações (Tabela 5).

Tabela 5 – Análise molecular de variância de cinco populações de *S. mombin*.

FV	GL	Soma de Quadrados	Componente de Variância	Percentual de Variação	Índice de Fixação (Φ_{ST})	p-valor
Entre Populações	4	167,43	3,75	11,29	0,11	0,0000**
Dentro de Populações	23	678,75	29,51	88,71		

FV: Fonte de variação; GL: Graus de Liberdade; Valor de P = probabilidade de significância.

Corroborando com os resultados obtidos pelo dendrograma (Figura 3), os resultados da análise Bayesiana executada no *software* Structure revelam que os agrupamentos não estão fortemente correlacionados com os locais de origem dos

acessos, uma vez que os indivíduos de diferentes locais de coleta apresentaram grande possibilidade de pertencerem a um mesmo grupo genético. Os acessos de *S. mombin* foram separados em dois grupos genéticos distintos, pois o valor mais provável de ΔK foi $K=2$ (Figura 5). De acordo com o método da entropia para determinar o valor ideal de K , também foi encontrado o valor de $K=2$.

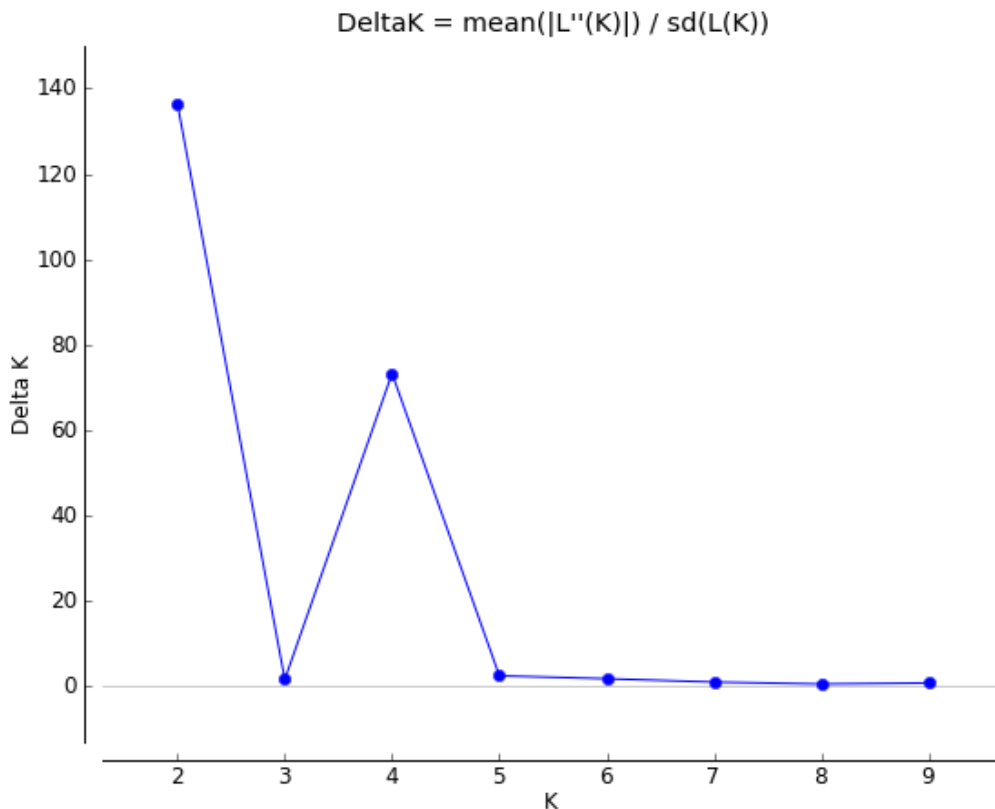


Figura 5 – Valores de ΔK estimados para as populações de *S. mombin*.

Todos os acessos foram constituídos por dois grupos genéticos, em maior ou menor proporção (Figura 6). A probabilidade de um acesso pertencer ao grupo 1 ou ao grupo 2 é representada por cores distintas, vermelho e verde, respectivamente. Há uma predominância de um dos grupos genéticos em todos os acessos. Isso demonstra uma baixa mistura de genomas entre os grupos genéticos.

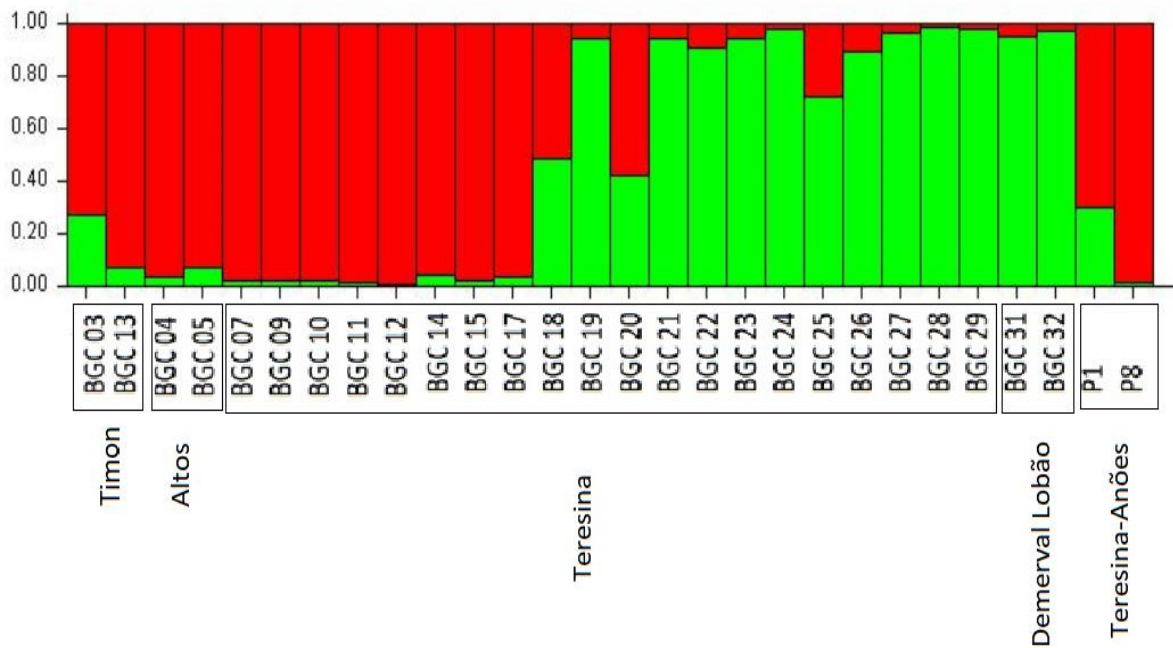


Figura 6 – Gráfico gerado pelo *software* Structure mostrando os acessos de *S. mombin* distribuídos em dois grupos genéticos.

Apenas os acessos BGC-03, BGC-18, BGC-20, BGC 25 e P1 apresentaram menos de 80% de constituição de um único grupo genético. Enquanto os acessos BGC-11, BGC-12, BGC-24, BGC 28, BGC-29 e P8 apresentaram uniformidade em sua estruturação genética.

4.2 Caracterização Morfológica

Para as análises de variância individuais foram constatadas diferenças significativas entre os genótipos em todos os anos de avaliação. Considerando-se a análise conjunta, há diferenças significativas entre os acessos para todos os cinco caracteres analisados, indicando que há divergência genética em relação aos caracteres analisados (Tabela 6). Quanto à interação dos genótipos com os ambientes (GxA), sendo cada ano considerado como um ambiente, observou-se significância nos valores dos quadrados médios para todos os caracteres, demonstrando forte influência dos efeitos da interação GxA na expressão dos caracteres avaliados.

Tabela 6 – Quadrados médios referentes à análise de variância conjunta de 19 acessos de *S. mombin* avaliados em 5 anos.

FV	GL	QM				
		MF	CF	DF	MC	MS
G	18	235,58***	492,85***	200,75**	6,54***	27,85***
A	4	206,66***	244,5***	355,28**	9,37***	27,61***
GxA	25	141,59***	203,92***	177,54**	3,70***	16,12***
Erro	442	4,107	6,87	87,89	0,1628	0,4604

FV: fonte de variação; GL: grau de liberdade; QM: quadrado médio; G: genótipo; A: ambiente; GxA: interação genótipo e ambiente; MF: massa total do fruto; CF: comprimento do fruto; DF: diâmetro do fruto; MC: massa da casca; MS: massa da semente. *** = significativo a 0,1%; ** = significativo a 1%.

O grupo formado pelos acessos BGC-15 e BGC-04 apresentou a menor distância (0,61), enquanto a maior distância (24,41) foi encontrada entre os acessos BGC-13 e BGC-26 (Anexo C). A partir da análise de agrupamento por meio do método UPGMA foi obtido um dendrograma e com base no índice de correlação cofenética ($r= 0,80$) há uma confiabilidade na associação da matriz com o dendrograma.

Adotando-se como ponto de corte a média dos valores da Distância Euclidiana (8,21) houve a formação de três grupos. Há a formação de um grande grupo, contendo 16 acessos (88,21% dos acessos) com maior grau de similaridade entre si e a ocorrência de dois grupos menores contendo apenas três acessos (BGC-06, BGC-13 e BGC-12). Assim como na análise molecular, os acessos em estudo também não se agruparam de acordo com seu local de coleta com base nos caracteres morfológicos (Figura 7).

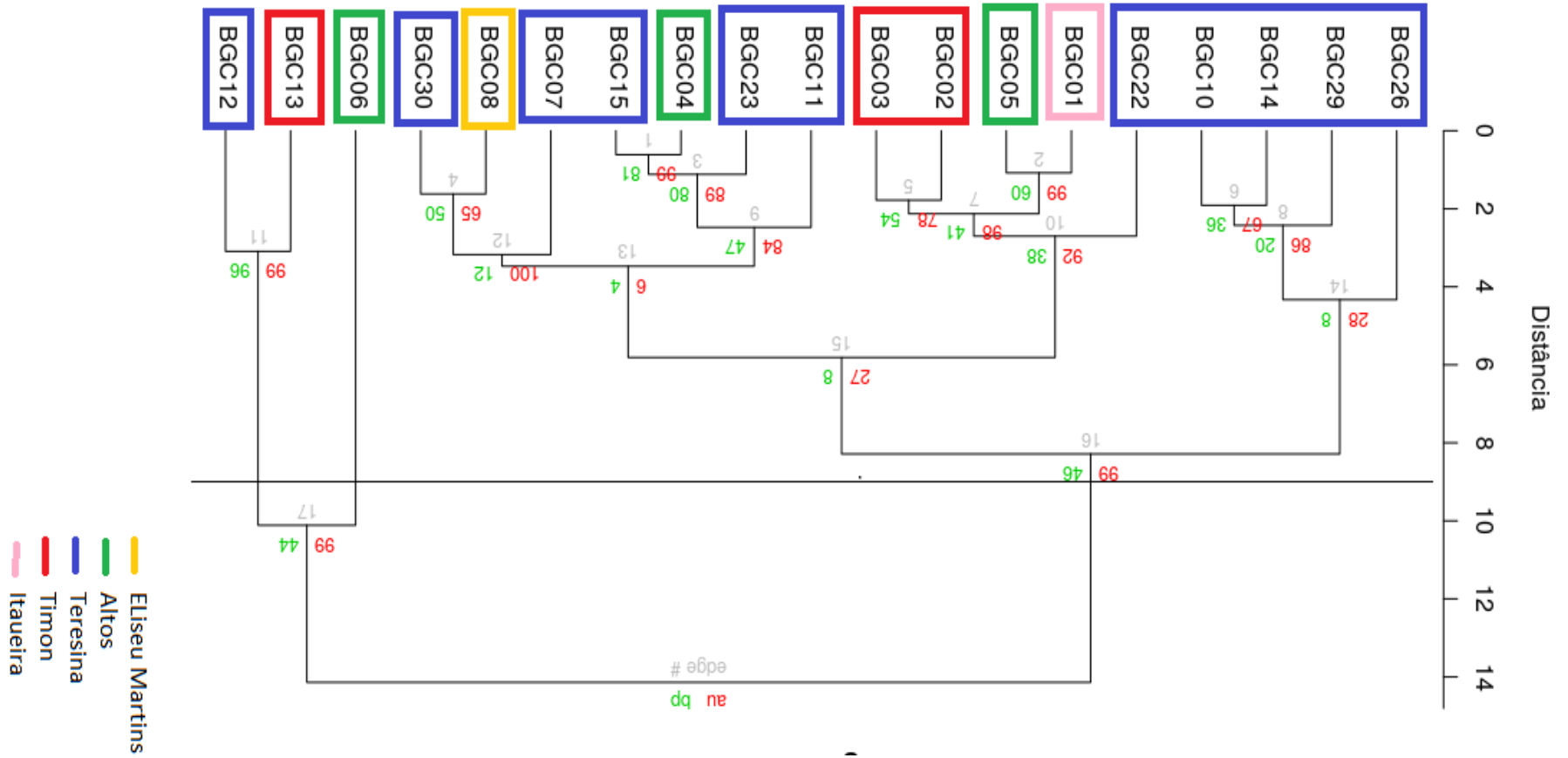


Figura 7 – Dendrograma gerado utilizando-se método de agrupamento UPGMA a partir das medidas de dissimilaridade geradas pela distância euclidiana média, em razão dos dados morfológicos de frutos de 19 acessos de *S. mombin*.

Houve a geração de cinco componentes principais (CP), dos quais foram extraídos os dois primeiros que, de forma acumulada, explicaram 91,14 % da variância total dos dados (Tabela 7). A contribuição dos demais componentes foi mínima, dessa forma eles não foram considerados na análise.

Tabela 7 – Componentes principais da análise multivariada de caracteres morfológicos do fruto para 19 acessos de *S. mombin*.

Componente	Varição Explicada (%)	Varição Acumulada (%)
CP1	82,83	-----
CP2	8,31	91,14
CP3	6,34	97,98
CP4	1,49	99,43
CP5	0,53	100,00

No gráfico *biplot*, no qual foram plotados os componentes principais 1 e 2 (Figura 8), explicou 91,14% da variação. Os acessos BGC-01, BGC-12 e BGC-22 estão plotados no quadrante onde estão presentes os caracteres MS, MF e CF, demonstrando que esses acessos apresentaram médias altas para esses caracteres. Os caracteres DF e MC foram associados aos acessos BGC-02, BGC-03, BGC-05, BGC-06, BGC-11 e BGC-13. Os demais acessos apresentaram valores baixos na média para todos os caracteres analisados, por isso não estão associados a nenhum caráter em particular.

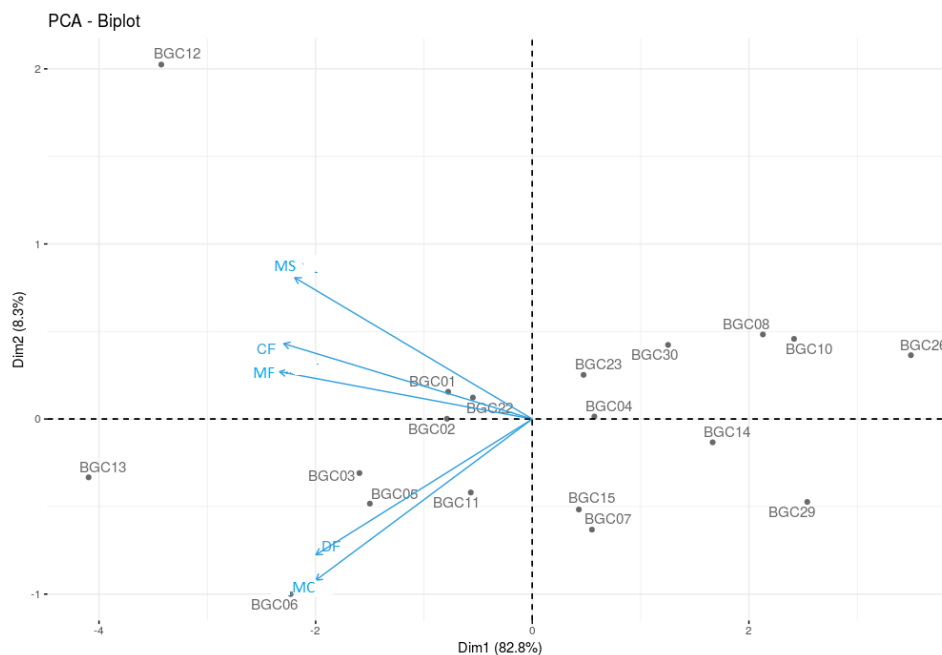


Figura 8 – Gráfico *biplot* de componentes principais para os cinco caracteres avaliados em 19 acessos de *S. mombin* da região Meio-Norte do Brasil. MF: massa total do fruto; CF: comprimento do fruto; DF: diâmetro do fruto; MC: massa da casca; MS: massa da semente.

Com base em uma escala de cores dos vetores foi possível observar a contribuição de cada caráter para a variação entre os genótipos (Figura 9). Os caracteres MF, CF e MS foram os que mais contribuíram para a variação dos acessos. Os demais caracteres, DF e MC contribuíram em menor escala. Por meio dos vetores, observou-se uma correlação positiva entre todos caracteres e os mais correlacionados foram DF e MC.

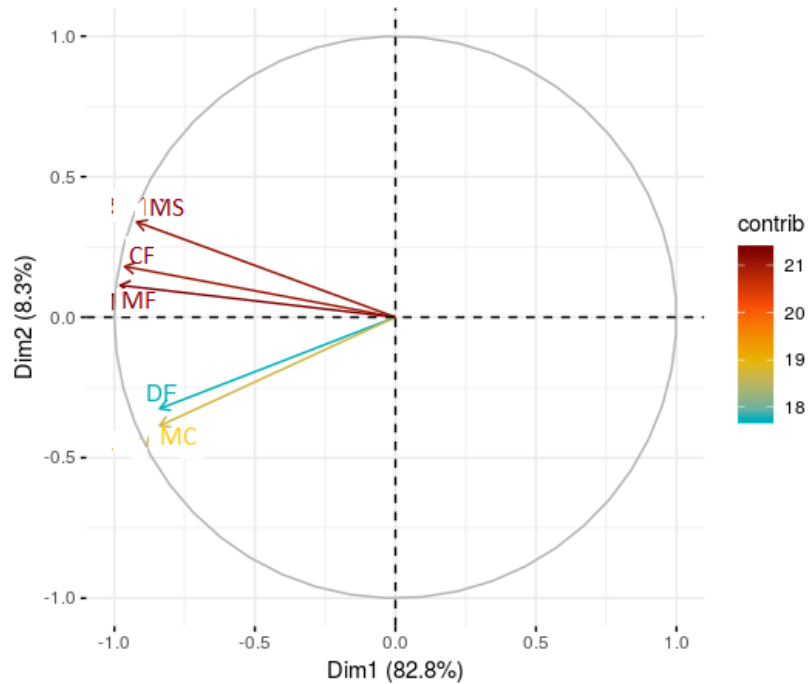


Figura 9 – Contribuição dos caracteres morfológicos para a variação dos dados. MF: massa total do fruto; CF: comprimento do fruto; DF: diâmetro do fruto; MC: massa da casca; MS: massa da semente.

Há semelhança no arranjo dos acessos em cada grupo com os grupos obtidos no dendrograma e o agrupamento não foi baseado no local de coleta. Cada cor representa um grupo genético, determinado *a priori*, com base nos dados de passaporte dos acessos: Piauí, Maranhão e Desconhecido. A maioria dos acessos foi representada pelos três grupos, em maior ou menor proporção, com maior predominância do grupo Piauí (Figura 10).

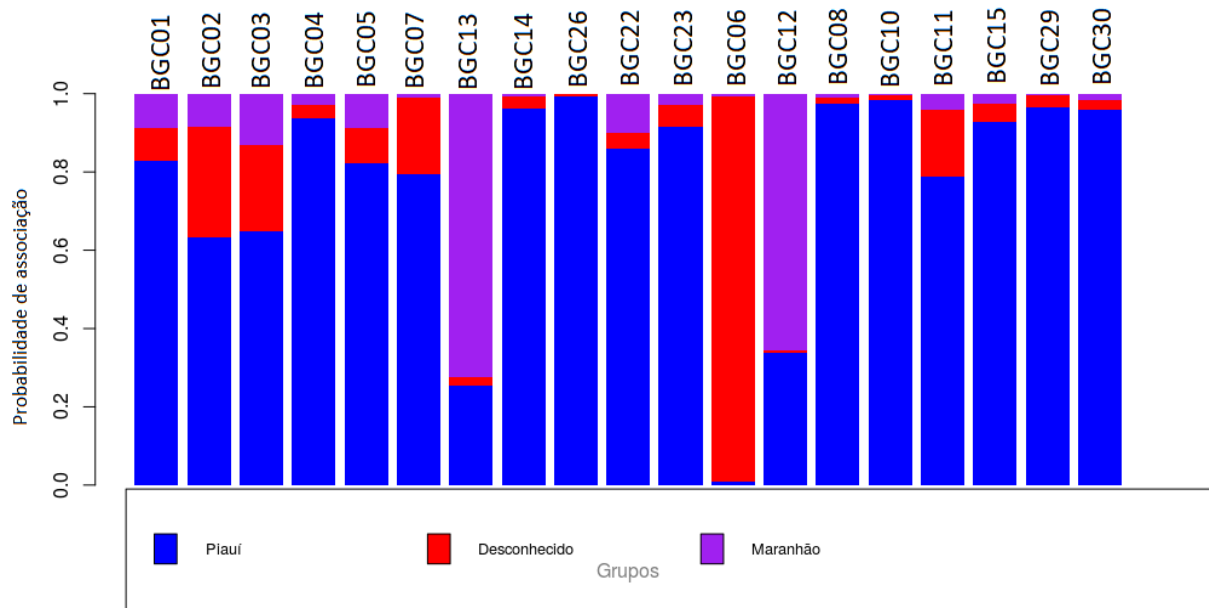


Figura 10 – Análise Discriminante sob Componentes Principais de 19 acessos de *S. mombin*.

5 DISCUSSÃO

5.1 Caracterização Molecular

O estudo genético utilizando marcadores moleculares ISSR foi eficiente na avaliação da diversidade genética, contribuindo para determinar as relações entre os acessos presentes no banco de germoplasma de cajá da Embrapa Meio Norte.

A porcentagem de locos polimórficos reflete a quantidade de polimorfismo de uma população ou conjunto de amostras. É uma medida baseada na razão entre o número de locos polimórficos pelo número total de locos analisados. Representa uma mensuração qualitativa que permite, além de verificar a quantidade de variação genética existente em uma população, poder compará-la entre populações;

A taxa de polimorfismo (88,75%) obtido no presente estudo, em acessos de *S. mombin*, foi superior aos dados relatados por Silva et al. (2017b) com essa mesma espécie (64,65%). Já com umbu, uma espécie do gênero *Spondias*, a porcentagem de locos polimórficos foi de 62,5% (LINS-NETO et al., 2013).

Silva et al. (2017b) estudaram populações naturais de cajá e a baixa taxa de polimorfismo pode ser explicada pelo fato de não ter ocorrido seleção prévia de acessos, apesar de terem analisado uma quantidade maior de acessos (126 acessos). Já Lins-Neto et al. (2013) trabalharam com outra espécie (umbu), que pode apresentar um grau de diversidade diferente, apesar de pertencer ao mesmo gênero.

De forma geral, *primers* compostos pelas repetições dos di-nucleotídeos AG, GA, CT, TC, AC, CA mostram maior polimorfismo do que aqueles com AT, além que esses últimos tendem a se auto-hibridizar (VIJAYAN et al., 2005), não produzindo fragmentos de amplificação. Assim, o elevado número de locos polimórficos encontrados no presente estudo pode ser também associado à estrutura dos *primers* utilizados, que em sua maioria são formados pelas sequências di-nucleotídicas repetidas acima citadas e todos serem do tipo ancorado na extremidade 3', gerando um maior polimorfismo (REDDY; SARLA; SIDDIQ, 2002).

Como era esperado, o nível de diversidade genética variou de acordo com o tamanho das populações, pois os maiores valores, estimados a partir do índice de diversidade de Nei (H) e o índice de Shannon (I), foram encontrados na população de Teresina (H = 0,35 e I = 0,51) com 20 acessos, enquanto que a população de

Demerval Lobão apresentou a menor diversidade genética ($H = 0,13$ e $I = 0,18$), com 2 acessos.

Em nível de espécie, obteve-se $H = 0,37$ e $I = 0,55$, tais valores encontrados são indicativos de alta diversidade genética entre os acessos de *S. mombin* avaliados. Resultados semelhantes foram encontrados por Silva et al. (2017b), onde foi encontrada grande diferenciação entre populações com base nos índices de diversidade genética de Nei ($H=0,26$) e de Shannon ($I=0,39$), para cajá em três cidades do estado do Mato Grosso. Por ser uma espécie em domesticação, se espera grande diversidade entre os acessos de cajá (LIMA et al., 2011), pois em espécies domesticadas os indivíduos tendem a apresentar uniformidade genética devido aos sucessivos processos de seleção artificial.

O índice de diferenciação genética entre as populações (Φ_{ST}) pode ser considerado moderado (0,11). De acordo com Wright (1978), valores dentro do intervalo 0,05-0,25 indicam moderada diferenciação genética entre populações.

De modo geral, esses índices e a AMOVA indicaram presença de maior variabilidade dentro das populações e menor entre as populações, estando em consonância com o sistema reprodutivo da espécie, que é preferencialmente alógama. Adler & Kielpinski (2000) identificaram um padrão de floração sazonal e sincrônica para diversas populações de *S. mombin* L. do Panamá, demonstrando um favorecimento à alogamia, corroborando com os dados obtidos neste trabalho. Analisando a diversidade genética de cajá, Silva et al. (2017b) encontraram maior diferenciação dentro das populações (77,38%) e menor entre populações (22,62%), semelhante aos encontrados entre os acessos em estudo (88,71% dentro das populações e 11,29% entre populações).

O número de migrantes (N_m) indica o grau de fluxo gênico entre as populações (MARTINS, 1987). Govindaraju (1989) determinou três níveis de fluxo gênico: alto ($N_m > 1$), intermediário ($0,25 < N_m < 0,99$) e baixo ($N_m < 0,25$). Com bases nesses valores, o N_m encontrado nesse trabalho (0,6268) é considerado intermediário. Dessa forma, as populações não estão geneticamente isoladas.

As espécies de abelha sem ferrão (meliponíneos) são visitantes florais regulares e potenciais polinizadores do cajá, mas possuem voo de curto raio e baixa intensidade de forrageio (FREITAS; BOMFIM, 2017). Apesar de próximas, as

distâncias entre as localidades dos acessos estudados são superiores ao raio alcançado pelos polinizadores, diminuindo a taxa de fluxo gênico identificada pelo moderado número de migrantes.

O valor do fluxo gênico encontrado está em discordância com o encontrado por Silva et al. (2017b), que foi de 2,0684 migrantes por geração para genótipos de cajá coletados em populações naturais de três cidades do estado do Mato Grosso. Essa diferença pode ser explicada pelo fato do presente estudo ter sido realizado com acessos oriundos de áreas urbanas, apresentando, portanto, fluxo gênico alterado.

Com base no dendrograma obtido pelo método UPGMA (Figura 3), os acessos não se agruparam segundo o seu local de coleta, corroborando com a AMOVA, demonstrando que existe maior variabilidade dentro das populações que entre as populações. O agrupamento diferenciado entre os acessos de uma mesma localidade indica que estes são derivados de diferentes genitores e que existe grande diversidade genética dentro da espécie *S. mombin*.

Os acessos de porte anão, apesar de sua coleta ter sido realizada no município de Teresina, seu local de origem é incerto, pois o produtor cultivava sementes sem um controle de origem, justificando o seu agrupamento diferenciado entre si e com os demais acessos dessa localidade, tendo valores de distância genética acima da distância média com todos os acessos. Dessa forma, sugere-se que esses acessos sejam incorporados ao BAG da Embrapa Meio-Norte, com a finalidade de enriquecer a variabilidade armazenada e conservada.

Em estudos de diversidade genética de espécies do gênero *Spondias* utilizando marcadores ISSR, encontrou-se resultados semelhantes ao presente estudo, onde acessos coletados de um mesmo local agruparam-se separadamente (SANTANA et al., 2011; YAMAMOTO et al., 2017). Lima et al. (2011), trabalhando com marcadores RAPD, com os mesmos acessos do BAG deste trabalho, obtiveram um dendrograma semelhante, havendo também a formação de um grande grupo contendo a maioria dos genótipos (84,37%) e os locais de coletas não sendo determinantes para a formação dos grupos.

Corroborando com os resultados apresentados no dendrograma, a análise Bayesiana também não revelou um agrupamento baseado no local de coleta, o que

demonstra que a distribuição geográfica pode não ser o fator principal para determinar a estrutura populacional da espécie em estudo.

O agrupamento pela distância genética de Nei mostrou uma menor distância genética (0,13) entre a população de Teresina e as populações de Timon e Demerval Lobão (Tabela 4). Esse fato pode ser explicado pela maior proximidade geográfica entre essas populações. Embora as populações estejam geograficamente distantes e tenham o rio Parnaíba como barreira geográfica entre os dois estados, a distância genética encontrada entre as populações foi baixa.

Portanto, esses resultados reforçam a existência de diferenciação genética nas populações de *S. mombin* analisadas e que os acessos estudados representam uma fonte de variação que poderá subsidiar programas de melhoramento genético.

5.2 Caracterização Morfológica

As diferenças significativas entre os genótipos, pelo teste F, evidenciaram a existência de variabilidade genética no germoplasma em estudo, sugerindo a perspectiva de ganhos genéticos na seleção para caracteres de interesse. Soares et al. (2006) e Marques et al. (2018) trabalhando com cajá, e Costa et al. (2015) trabalhando com umbu, analisaram a morfologia de frutos quanto à massa, comprimento, diâmetro e rendimento da polpa, encontrando valores significativos para todas os caracteres em estudo, demonstrando grande variabilidade presente nas espécies do gênero *Spondias*.

A interação genótipo x ambiente (GxA) pode proporcionar respostas diferenciadas apresentadas pelos genótipos testados quando se analisa o seu desempenho em diferentes ambientes / locais de cultivo ou ciclos de produção. No presente estudo, observou-se diferenças significativas quanto ao efeito da interação GxA para todos os caracteres analisados. Tal resultado é esperado, pois foram utilizadas características de herança quantitativa, que sofrem grande influência de alterações ambientais. Para descritores fenotípicos quantitativos é sugerido que a avaliação possa ocorrer em mais de um ciclo de produção (SOBRAL et al. 2019), devido a sua baixa herdabilidade.

Assim como na análise molecular, não houve a formação de grupos com base no local de coleta. A menor distância foi encontrada entre os acessos oriundos de

idades distintas (BGC-04 e BGC-15), enquanto acessos de uma mesma localidade, como BGC-03 e BGC-13 (Timon), BGC-12 e BGC-26 (Teresina), apresentaram uma distância genética acima da média e foram agrupados distintamente. Esse agrupamento pode ser resultado de uma origem genética distinta, sugerindo uma grande variabilidade a ser explorada.

O padrão de agrupamento observado pode ser devido ao fato de que genótipos muito distantes podem ser morfológicamente semelhantes, uma vez que, embora as coletas tenham sido realizadas em locais distintos há a possibilidade de o local de coleta não ser o local de origem do acesso. Resultados semelhantes com o mesmo gênero foram encontrados em análises de frutos de Ciriguela (ASTUDILLO et al., 2017), umbu-cajá (LIMA, M., et al., 2015) e cajá (PINTO et al., 2003; SILVA et al., 2017a).

Não houve correlação entre os dendrogramas da análise molecular e morfológica. Isso ocorreu, pois, a análise molecular informa sobre diferenças nos genes e distância genética, enquanto a morfológica é medida a partir da expressão de um fenótipo, que é dependente da ação conjunta de genes e da influência ambiental, fato evidenciado na análise de variância, onde o efeito da interação GxA foi significativo para todas os caracteres testados. Porém, são estimativas complementares, pois de forma preditiva expressa o grau de diversidade entre os acessos (CRUZ; FERREIRA; PESSONI, 2011) e como esses se desenvolvem em diferentes ambientes (SOBRAL et al., 2018).

Dentre as técnicas multivariadas, a análise de componentes principais reduz a dimensionalidade de um conjunto de dados, preservando o máximo possível de variabilidade, ou seja, tem o objetivo de identificar os caracteres que expliquem a maior parte da variabilidade (JOLLIFFE; CADIMA, 2016). É uma análise que identifica os caracteres mais relevantes no conjunto das componentes principais. A análise de componentes principais permitiu inferir um bom desempenho na classificação de amostras, pois os dois primeiros explicam a maior parte da variação (91,14%). De acordo com Cruz; Ferreira; Pessoni (2011), os dois primeiros componentes devem revelar a maior quantidade de variação.

Os caracteres Massa do Fruto, Comprimento do Fruto e Massa da Semente, foram os que mais contribuíram para a variabilidade, indicando que esses caracteres

devem ser priorizados (em detrimento dos demais avaliados) para futuros estudos com *S. mombin*, bem como para espécies do gênero. Já o Diâmetro do Fruto e Massa da Casca apresentaram uma menor contribuição, devendo ser evitados em futuros estudos com a espécie, tendo em vista sua baixa capacidade em expressar as diferenças fenotípicas entre os acessos.

Pinto et al. (2003) também encontraram dois componentes principais que explicaram 80,92% da variação e os caracteres que mais contribuíram para a variabilidade estavam relacionados à massa dos frutos em genótipos de cajazeira. Já Silva et al. (2017^a) encontraram 83,63% da variação explicada nos três primeiros componentes principais em estudos morfológicos de frutos de cajá.

A relação dos caracteres é indicada pelo ângulo formado entre os seus vetores (Figura 9). Um ângulo menor que 90° indica caracteres positivamente correlacionados; em oposição, um ângulo maior que 90°, pode-se considerar negativamente correlacionado. Assim, os caracteres analisados são positivamente correlacionados entre si, principalmente os relacionados ao tamanho e peso do fruto.

A análise da correlação entre os caracteres pode subsidiar alternativas que maximizem o ganho previsto com a seleção de vários caracteres de forma simultânea ou facilite o ganho genético de um caráter de baixa herdabilidade ou de difícil mensuração (ENTRINGER et al., 2015). Como as correlações foram todas significativas e positivas demonstram que o descarte da maioria dos caracteres não causaria perda de informação, caso sejam utilizados em próximas avaliações da espécie.

Os acessos BGC-13 e BGC-12 foram os que compuseram as combinações mais divergentes quando esses foram combinados com os outros os acessos de cajá avaliados, evidenciando que, diferente dos demais, cruzamentos envolvendo um desses poderão propiciar um efeito heterótico satisfatório. Pois, segundo Cruz; Ferreira e Pessoni (2011), acessos que apresentam menor distância possuem muitos alelos em comum, gerando baixo vigor híbrido.

Porém, para a recomendação de genótipos para o cruzamento é necessário também levar em consideração os acessos que apresentam desempenho superior em características de interesse (SILVA et al., 2014). Por meio do gráfico *biplo*t dos componentes principais, o acesso BGC-12 apresentou a maior média para os

caracteres MF e CF, evidenciando a presença de frutos grandes, tornando-se uma boa opção para cruzamentos visando o melhoramento genético.

Por ser uma espécie arbórea, atingindo 25m em média, a colheita manual é dificultada e os frutos são colhidos do chão, sendo geralmente danificados devido à queda, impossibilitando-o para o consumo *in natura* (SACRAMENTO; SOUZA, 2009). Portanto, o cruzamento do acesso BGC-12 com um dos acessos de porte anão pode ser vantajoso do ponto de vista comercial, diminuindo a possibilidade de perda na colheita.

A análise de discriminante permite verificar a diferença entre grupos e a probabilidade de que um indivíduo pertença a um determinado grupo. No agrupamento obtido por meio da ADCP, foram estabelecidos três grupos inicialmente. Mesmo que o princípio da técnica seja diferente do agrupamento UPGMA, os grupos formados foram estreitamente associados por ambas as metodologias. Tal resultado demonstrou que os grupos formados foram altamente consistentes e que o padrão de agrupamento não foi determinado pelos locais de coleta dos acessos.

Para a espécie *S. mombin* as caracterizações morfológica e molecular se mostraram eficazes para o estudo da diversidade genética dos acessos de cajá presentes no BAG de cajá da EMBRAPA Meio-Norte. Dessa forma, a abordagem integrada, incorporando estudos morfológicos e moleculares, promoverá a conservação eficiente, com o máximo da variabilidade genética e um mínimo de repetibilidade, de acessos do BAG da Embrapa Meio-Norte, auxiliando programas de melhoramento genético da espécie.

6 CONCLUSÕES

Os marcadores genéticos, moleculares e morfológicos, possibilitaram a identificação da presença de variabilidade e diferenciação genética na coleção de cajá do BAG da Embrapa Meio-Norte.

Baseado na análise molecular os acessos de porte anão foram os mais divergentes entre os acessos analisados, sendo indicados para a introdução na coleção do BAG da Embrapa Meio-Norte.

Os cinco pontos de coleta amostrados não constituem subpopulações, pois não há isolamento reprodutivo, evidenciado pelo moderado fluxo gênico e a diferenciação genética mediana entre as populações indicada pela medida de diferenciação genética.

Em relação as características morfológicas os acessos BGC-12 e BGC 13 foram os mais dissimilares quando comparados com os acessos, portanto, foram os mais indicados como genitores para cruzamento em programas de melhoramento genético.

Cruzamentos entre o acesso BGC-12, que apresentou maior média para MF e CF, e os acessos anões (P1 e P8) podem resultar em progênies de interesse comercial com frutos maiores e com redução de perdas na colheita.

Os caracteres que mais contribuíram para a variabilidade genética foram MF, CF e MS, sendo caracteres sugeridos para uso em futuros estudos de diversidade genética sobre a espécie.

REFERÊNCIAS

- ADLER, G. H.; KIELPINSKI, K. A. Reproductive Phenology of a Tropical Canopy Tree, *Spondias mombin*. **Biotropica**, v. 32, n. 4^a, p. 686-692, 2000.
- AJAEGBU, E. E. et al. Mosquito adulticidal activity of the leaf extracts of *Spondias mombin* L. against *Aedes aegypti* L. and isolation of active principles. **Journal of Vector Borne Diseases**, v. 53, n. 1, p. 17-22, 2016.
- ANDRADE, A. S. A. et al. Estudo da produção de enzimas pectinolíticas e celulolíticas por fermentação em estado sólido a partir do bagaço de cajá. **Revista Saúde & Ciência Online**, v. 7, n. 2, p. 457-472, 2018.
- ASTUDILLO, Y. I. et al. Chemical and phenotypic diversity of 46ssesm plums (*Spondias purpurea* L.) from the states of Guerrero and Morelos, Mexico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 2, 2017.
- BARUAH, J. et al. Genetic diversity study amongst *Cymbopogon* species from NE-India using RAPD and ISSR markers. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 235-243, 2017.
- BNB – BANCO DO NORDESTE. **Caderno Setorial: Fruticultura na área de atuação do Banco do Nordeste, Brasil**, 2018.
- BOUROCHE, J. M.; SAPORTA, G. **Análise de dados**. Rio de Janeiro: Zahar, 1982.
- BUHROO, Z. et al. An efficient protocol for the inter-simple sequence repeat (ISSR) marker approach in population genetic studies. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 6, n. 4, p. 597-600, 2018.
- COSTA, F. R. et al. Biometrical analysis of umbu fruits from 46ssessmen semiarid. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 3, p. 682-690, 2015.
- CRUZ, C. D., FERREIRA, F. M., PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Suprema: Visconde do Rio Branco, 2011. 620p.
- DUTRA, F. V. et al. Características físicas e químicas de acessos de umbuzeiros (*Spondias tuberosa* Arr. Cam). **Revista de Ciências Agrárias**, v. 40, n. 4, p. 140-149, 2017.
- 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.
- ECHEVERRIGARAY, S. et al. Population Structure and Genetic Diversity of the Medicinal and Aromatic Plant *Cunila spicata* Benth. (Lamiaceae) Based on Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers. **Journal of Advances in Biotechnology**, v. 5, n. 2, p. 652-658, 2016.
- ELUFIOYE, T. O. et al. Anticholinesterase constituents from the leaves of *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae). **Biologics: Targets and Therapy**, v. 11, p. 107-114, 2017.
- ENTRINGER, G. C. et al. Correlação e análise de trilha para componentes de produção de milho superdoce. **Ceres**, v. 61, n. 3, p. 235-243, 2015.

- ESUA, O. J. et al. Antioxidant potential, phytochemical and nutrient compositions of Nigerian hog plum (*Spondias mombin*) seed kernel as a new food source. **International Food Research Journal**, v. 23, p. 179-185, 2016.
- EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, v. 14, n. 8, 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, n. 3, p. 564-567, 2010.
- FREITAS, B. M.; BOMFIM, I. G.A. Meliponíneos e polinização: a abelha jandaíra e outros meliponíneos na polinização agrícola no semiárido. IN: FONSECA, V. L. I.; KOEDAM, D.; HRNCIR, M. (Org.). **A abelha jandaíra: no passado, presente e no futuro**. Mossoró: EdUFERSA, 2017. Cap. 20, p. 213-220.
- FREITAS, B. S. M. et al. Physical-chemical characterization of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) foam-mat drying at different temperatures. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 22, n. 6, p. 430-435, 2018.
- FRICHOT, E.; FRANÇOIS, O. LEA: an R package for landscape and ecological association studies. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 6, n. 8, p. 925-929, 2015.
- GALATE, R. dos S. et al. Caracterização morfo-agronômica de germoplasma de açaizeiro no nordeste paraense. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 2, p. 540-550, 2012.
- GOIS, I. B. et al. Diversidade genética entre indivíduos de *Spondias lutea* L. procedentes do baixo São Francisco sergipano, por meio de marcadores RAPD. **Revista Árvore**, v. 38, n. 2, 2014.
- GONÇALVES, M. R. et al. Conservação *in vitro* de plantas medicinais. **Ciência & Tecnologia Fatec-JB**, v. 10, n. 2, p; 1-6, 2018.
- GONÇALVES, N. M. et al. logurte com geleia de cajá (*Spondias mombin* L.) adicionado de probióticos: avaliação microbiológica e aceitação sensorial. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 12, n. 1, p. 54-63, 2018.
- GOVINDARAJU, D. R. Variation in gene flow levels among predominantly self-pollinated plants. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 2, n. 3, p. 173-181, 1989.
- GRIGOLO, S. et al. Implicações da análise univariada e multivariada na dissimilaridade de acessos de feijão comum. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 17, n. 3, p. 351-360, 2018.
- GROVER, A.; SHARMA, P. C. Development and use of molecular markers: past and present. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 36, n. 2, p. 290-302, 2016.
- HOTELLING, H. Analysis of a complex of statistical variables into principal components. **Journal of Educational Psychology**, v.24, n.6, p.417, 1933.
- JOLLIFFE, I. T.; CADIMA, J. Principal component analysis: a review and recent developments. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 374, n. 2065, p. 1-16, 2016.

- LEWONTIN, R. C. The apportionment of human diversity. In: **Evolutionary Biology**. Springer, p.381-398, 1972.
- LIMA, A. T. B. et al. Molecular characterization of cajá, *Spondias mombin* (Anacardiaceae), by RAPD markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, n. 4, p. 2893-2904, 2011.
- LIMA, E. N. et al. Diversidade genética de clones de aceroleira avaliada por meio de marcadores moleculares ISSR. **Comunicata Scientiae**, v. 6, n. 2, p. 174-180, 2015.
- LIMA, E. Q.; OLIVEIRA, E.; BRITO, H. R. Extraction and characterization of the essential oils from *Spondias mombin* L. (Cajá), *Spondias purpurea* L. (Ciriguela) and *Spondia* ssp (Cajarana do sertão). **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 2, p. 105-116, 2016.
- LIMA, M. S. S. et al. Caracterização de frutos de genótipos selecionados de umbucajazeira (*Spondias* sp.). **Interciencia**, v. 40, n. 5, p. 311-316, 2015.
- LINS-NETO, E. M. F. et al. Traditional knowledge, genetic and morphological diversity in populations of *Spondias tuberosa* Arruda (Anacardiaceae). **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 60, n. 4, p. 1389-1406, 2013.
- LOURENÇO, M. A. M. et al. *Spondias mombin* supplementation attenuated cardiac remodelling process induced by tobacco smoke. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 22, n. 8, p. 3996-4004, 2018.
- MARQUES, C. S. et al. Qualidade agroindustrial de frutos de taperebazeiros (*Spondias mombin* L.) cultivados em áreas urbanas de Boa Vista, Roraima. **Revista Eletrônica Ambiente, Gestão e Desenvolvimento**, v. 11, n. 1, p. 296-307, 2018.
- MARTINS, C. C. et al. Tratamentos pré-germinativos em sementes de cajá (*Spondias mombin* L.). **Ciência Florestal**, v. 29, n. 1, p. 363-370, 2019.
- MARTINS, P. S. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação "in situ". **Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais**, v. 35, p. 71-78, 1987.
- MENGXUE, M. A. et al. Outcrossing Rates and Gene Flow in Natural Population of the Endangered Endemic Aquatic Lycophyte *Isoetes yunguiensis* as Revealed by ISSR Markers. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 47, n. 2, p. 339-346, 2018.
- MITCHELL, J. D.; DALY, D. C. A revision of *Spondias* L. (Anacardiaceae) in the Neotropics. **PhytoKeys**, n. 55, p. 1-92, 2015.
- MOITA-NETO, J. M.; MOITA, G. C. Uma introdução à análise exploratória de dados multivariados. **Química Nova**, v. 21, n. 4, p. 467-469, 1998.
- MONDINI, L.; NOORANI, A.; PAGNOTTA, M. Assessing plant genetic diversity by molecular tools. **Diversity**, v. 1, n. 1, p. 19-35, 2009.
- NADEEM, M. A. et al. DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 32, n. 2, p. 261-285, 2017.
- NEI, M. Genetic distance between populations. **The American Naturalist**, v. 106, n. 949, p. 283-292, 1972.

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

NJOKU, P. C.; AKUMEFULA, M. I. Phytochemical and nutrient evaluation of *Spondias mombin* leaves. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 6, n. 6, p. 613-615, 2007.

NWIDU, L. L. et al. Hepatoprotective and antioxidant activities of *Spondias mombin* leaf and stem extracts against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. **Journal of Taibah University Medical Sciences**, v. 13, n. 3, p. 262-271, 2018.

OLIVEIRA, A. R. M. F. et al. Agronomic and morphological characterization of *Lippia* (verbenaceae) species native from 49ssessmen semiarid region. **Brazilian Journal of Agriculture**, v. 92, n. 2, p. 147-160, 2017.

OLIVEIRA, W. B. S. et al. Análise de trilha e diversidade genética de *Euterpe edulis* Martius para caracteres vegetativos e de frutos. **Scientia Forestalis**, v. 43, n. 106, p. 303-311, 2015.

OSUNTOKUN, O. T. et al. Assessment of Nephrotoxicity, Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of Epigallocatechin, Epicatechin and Stigmasterol Phytosterol (Synergy) Derived from Ethyl Acetate Stem Bark Extract of *Spondias mombin* on Wistar Rats Using Molecular Method of Analysis. **Journal of Molecular Microbiology**, v. 1, n. 1, p. 1-11, 2017.

PEARSON, K. On lines and planes of closet fit to a system of points in space. **Journal of Science**, v.60, n.2, p.557-572, 1901.

PINTO, W. S. et al. Caracterização física, físico-química e química de frutos de genótipos de cajazeiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 9, p. 1059-1066, 2003.

PRAJAPATI, D. R. et al. Morphological Characterization of Sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] Germplasm for DUS Traits. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 7, n. 2, p. 2058-2071, 2018.

PRITCHARD, K. J.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945-959, 2000.

PUERTA, M. F. P.; PERÉZ, J. F. B. Caracterización 49ssessment49mica de seis clones de cebolla rama (*Allium fitulosom* L.) cultivados em el 49ssessmen de pereira. **Revista de Investigación Agraria y ambiental**, v. 9, n. 2, p. 149-164, 2018.

R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

REDDY, M. P.; SARLA, N.; SIDDIQ, E. A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica**, v. 128, n. 1, p. 9-17, 2002.

REZENDE, L. C. et al. New alkyl phenols and fatty acid profile from oils of pulped *Spondias mombin* L. seed wastes. **Química Nova**, v. 41, n. 5, p. 540-543, 2018.

RIBEIRO, N. P. et al. Biodiversidade e conservação de recursos genéticos de espécies arbóreas. **Multitemas**, v. 21, n. 50, p. 31-49, 2016.

- RINGNÉR, M. What is principal component analysis?. **Nature Biotechnology**, v. 26, n. 3, p. 303, 2008.
- SACRAMENTO, C. K.; SOUZA, F. X. Cajá. IN: SANTOS-SEREJO, J. A et al. (Org.). **Fruticultura Tropical: espécies regionais e exóticas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. Cap. 5, p. 85-105.
- SAMEH, S. et al. Genus *Spondias*: A Phytochemical and Pharmacological Review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2018, p. 1-14, 2018.
- SAMPAIO, T. I. S. et al. Leaves of *Spondias mombin* L. a traditional anxiolytic and antidepressant: Pharmacological evaluation on zebrafish (*Danio rerio*). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 224, p. 563-578, 2018.
- SANTANA, I. B. B. et al. Variabilidade genética entre acessos de umbu-cajazeira mediante análise de marcadores ISSR. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 868-876, 2011.
- SANTOS, C. A. F.; RODRIGUES, M. A.; ZUCCHI, M. I. Variabilidade genética do umbuzeiro no Semi-Árido brasileiro, por meio de marcadores AFLP. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 8, p. 1037-1043, 2008.
- SANTOS, E. F. et al. Quantificação de compostos bioativos em frutos de umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Câm.) e cajá (*Spondias mombin* L.) nativos de Alagoas. **Revista Ciência Agrícola**, v. 16, n. 1, p. 21-29, 2018.
- SANTOS, R. et al. Avaliação da atividade genotóxica, citotóxica e antimicrobiana da infusão das folhas de *Spondias purpurea* L. **Scientia Plena**, v. 13, n. 3, p. 1-9, 2017.
- SCHNEIDER, T. et al. Biologia molecular aplicada à ciência das plantas daninhas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 17, n. 1, p. 12-24, 2018.
- SEBRAE – Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Boletim de Inteligência: Agronegócio Fruticultura**. Brasil, 2015
- SILVA, B. M. et al. Genetic divergences between *Spondias mombin* (Anacardiaceae) genotypes found through morphological traits. **Revista de Biologia Tropical**, v. 65, n. 4, p. 1337-1346, 2017^a.
- SILVA, B. M. et al. Genetic diversity of Cajazeira (*Spondias mombin* L.) in three geographic regions. **Genetic and Molecular Research**, v. 16, n. 1, p. 1-11, 2017b.
- SILVA, C. A. et al. Divergência genética entre acessos de cajazinho (*Spondias mombin* L.) no norte do Espírito Santo. **Ceres**, v. 61, n. 3, p. 362-369, 2015.
- SILVA, E. F.; MARTINS, L. S. S.; OLIVEIRA, V. R. Diversity and genetic assessment in caja tree (*Spondias mombin* L.) populations in Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 1, p. 171-181, 2009.
- SILVA, G. A. et al. Gênero *Spondias*: Aspectos botânicos, composição química e potencial farmacológico. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 10, n. 1, p. 27-41, 2014.
- SILVA, J. N. et al. DNA *barcoding* and phylogeny in neotropical species of the genus *Spondias*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 61, p. 240-243, 2015.

- SILVA, M. A. A. et al. Rastreamento de Tecnologias Utilizando o Gênero *Spondias* (Anacardaceae) nos Últimos 20 Anos. **Revista INGI-Indicação Geográfica e Inovação**, v. 2, n. 2, p. 95-108, 2018.
- SILVA, S. C.; SBRÍSSIA, A. F. Análise de componentes principais entre características morfológicas e estruturais em capim-mandacaru sob lotação contínua. **Ciência Rural**, v. 40, n. 3, p. 690-693, 2010.
- SOARES, E. B. et al. Caracterização física e química de frutos de cajazeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 3, p. 518-519, 2006.
- SOBRAL, K. M. B. et al. Genetic diversity 51ssessment among tal coconut palm. **Revista Caatinga**, v. 31, n. 1, p. 28-39, 2018
- SOBRAL, K. M. B. et al. Is there genetic variability in dwarf coconut accessions preserved in Brazil? **Revista Caatinga**, v. 32, n. 1, p. 52-61, 2019.
- SOUZA, D. C. L. Técnicas moleculares para caracterização e conservação de plantas medicinais e aromáticas: uma revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 3, p. 495-503, 2015.
- SOUZA, F. X. et al. Aspectos morfológicos da unidade de dispersão de cajazeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 1, p. 215-220, 2000.
- SOUZA, F. X. et al. Crescimento e desenvolvimento de clones de cajazeira cultivados na chapada do Apodi, Ceará. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 3, p. 414-420, 2006.
- SOUZA, F. X.; COSTA, J. T. A.; LIMA, R. N. Características morfológicas e fenológicas de clones de cajazeira cultivados na Chapada do Apodi, Ceará. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 37, n. 2, p. 208-215, 2006.
- VARGAS, T. O. et al. Diversidade genética em acessos de tomateiro *heirloom*. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 174-180, 2014.
- VIJAYAN, K. et al. 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.
- WOLD, S.; ESBENSEN, K.; GELADI, P. Principal component analysis. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 2, n. 1-3, p. 37-52, 1987.
- WRIGHT, S. **Evolution and the genetics of populations**. Vol. 4: variability within and among natural populations. University of Chicago Press, 1978.
- YAMAMOTO, E. L. M. et al. Morphological and molecular characterization of Umbu-Cajá tree in the northeast region of Brazil. **Bioteecnología Vegetal**, v. 17, n. 2, p. 77 – 90, 2017
- YEH, F. C.; YANG, R.; BOYLE, T. **POPGENE** v. 1.31. University of Alberta and center for international research, 1999.

Anexo A – Dados de Passaporte de 33 acessos de cajá coletados na região Meio-Norte do Brasil.

Código ou nome de identificação da amostra	UF onde ocorreu a coleta	Município	Coordenadas geográficas
BGC 1	PI	Itaueira	7°36'12"S/43°1'32"W
BGC 2	MA	Timon	5°5'39"S/42°50'12"W
BGC 3	MA	Timon	5°5'39"S/42°50'12"W
BGC 4	PI	Altos	5°2'17"S/42°27'36"W
BGC 5	PI	Altos	5°2'17"S/42°27'36"W
BGC 6	PI	Altos	5°2'17"S/40°27'36"W
BGC 7	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 8	PI	Eliseu Martins	8°5'48"S/43°39'49"W
BGC 9	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 10	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 11	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 12	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 13	MA	Timon	5°5'39"S/42°50'12"W
BGC 14	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 15	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 17	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 18	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 19	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 20	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 21	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 22	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 23	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 24	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 25	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 26	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 27	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 28	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 29	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 30	PI	Teresina	5°5'21"S/42°48'6"W
BGC 31	PI	Demerval Lobão	5°21'30"S/42°40'35"W
BGC 32	PI	Demerval Lobão	5°21'30"S/42°40'35"W
P1	PI	Teresina	4°58'34,6"S /42°40'59,2"W
P8	PI	Teresina	4°85'35"S/42°41'03,7"W

Anexo B – Matriz de distância genética obtidas pelo coeficiente de similaridade de Jaccard para 28 acessos de cajá.

(Continua)

	BGC 03	BGC 04	BGC 05	BGC 07	BGC 09	BGC 10	BGC 11	BGC 12	BGC 13	BGC 14	BGC 15	BGC 17	BGC 18	BGC 19	BGC 20	BGC 21
BGC 03																
BGC 04	0,58															
BGC 05	0,35	0,56														
BGC 07	0,47	0,53	0,40													
BGC 09	0,50	0,60	0,48	0,39												
BGC 10	0,43	0,49	0,39	0,32	0,36											
BGC 11	0,56	0,62	0,52	0,42	0,48	0,39										
BGC 12	0,58	0,64	0,56	0,50	0,44	0,40	0,38									
BGC 13	0,41	0,60	0,37	0,43	0,43	0,41	0,45	0,52								
BGC 14	0,65	0,63	0,63	0,65	0,54	0,52	0,67	0,63	0,57							
BGC 15	0,49	0,58	0,52	0,42	0,40	0,39	0,38	0,49	0,37	0,62						
BGC 17	0,52	0,59	0,46	0,45	0,52	0,39	0,50	0,52	0,47	0,57	0,46					
BGC 18	0,48	0,69	0,52	0,48	0,52	0,50	0,54	0,63	0,46	0,66	0,48	0,51				
BGC 19	0,47	0,66	0,47	0,46	0,50	0,46	0,57	0,61	0,45	0,64	0,55	0,50	0,43			
BGC 20	0,40	0,64	0,43	0,37	0,42	0,37	0,41	0,52	0,41	0,63	0,43	0,43	0,42	0,36		
BGC 21	0,42	0,59	0,43	0,45	0,48	0,48	0,52	0,58	0,47	0,66	0,48	0,50	0,45	0,37	0,36	
BGC 22	0,41	0,60	0,45	0,49	0,50	0,47	0,53	0,58	0,53	0,63	0,54	0,44	0,53	0,44	0,37	0,37
BGC 23	0,45	0,55	0,46	0,43	0,48	0,42	0,52	0,59	0,47	0,61	0,51	0,48	0,50	0,37	0,37	0,34
BGC 24	0,49	0,57	0,50	0,47	0,52	0,44	0,56	0,55	0,45	0,60	0,49	0,46	0,50	0,39	0,45	0,44
BGC 25	0,58	0,63	0,61	0,54	0,51	0,54	0,56	0,58	0,57	0,61	0,49	0,53	0,54	0,53	0,51	0,50
BGC 26	0,54	0,64	0,52	0,53	0,52	0,50	0,50	0,61	0,37	0,60	0,50	0,54	0,51	0,52	0,53	0,46
BGC 27	0,52	0,56	0,51	0,42	0,46	0,43	0,51	0,55	0,44	0,60	0,46	0,55	0,46	0,45	0,43	0,37
BGC 28	0,44	0,60	0,45	0,52	0,52	0,46	0,61	0,58	0,45	0,65	0,51	0,54	0,47	0,41	0,46	0,35
BGC 29	0,52	0,67	0,57	0,57	0,51	0,52	0,63	0,62	0,56	0,62	0,53	0,62	0,53	0,49	0,51	0,50
BGC 31	0,56	0,69	0,61	0,58	0,57	0,52	0,61	0,61	0,54	0,60	0,51	0,61	0,56	0,51	0,53	0,53
BGC 32	0,52	0,62	0,54	0,56	0,58	0,51	0,57	0,61	0,52	0,59	0,58	0,60	0,54	0,46	0,48	0,47
P1	0,65	0,67	0,60	0,60	0,58	0,57	0,62	0,65	0,62	0,64	0,57	0,63	0,61	0,59	0,54	0,54
P8	0,71	0,81	0,73	0,74	0,70	0,70	0,79	0,78	0,69	0,71	0,73	0,75	0,72	0,75	0,72	0,76

Anexo B – Matriz de distância genética obtidas pelo coeficiente de similaridade de Jaccard para 28 acessos de cajá.

(Conclusão)

	BGC 22	BGC 23	BGC 24	BGC 25	BGC 26	BGC 27	BGC 28	BGC 29	BGC 31	BGC 32	P1	P8
BGC 03												
BGC 04												
BGC 05												
BGC 07												
BGC 09												
BGC 10												
BGC 11												
BGC 12												
BGC 13												
BGC 14												
BGC 15												
BGC 17												
BGC 18												
BGC 19												
BGC 20												
BGC 21												
BGC 22												
BGC 23	0,40											
BGC 24	0,39	0,33										
BGC 25	0,49	0,47	0,39									
BGC 26	0,52	0,48	0,40	0,54								
BGC 27	0,48	0,35	0,39	0,50	0,37							
BGC 28	0,45	0,39	0,35	0,47	0,40	0,27						
BGC 29	0,49	0,47	0,44	0,46	0,48	0,43	0,39					
BGC 31	0,48	0,50	0,44	0,48	0,49	0,46	0,45	0,36				
BGC 32	0,44	0,43	0,41	0,54	0,41	0,39	0,44	0,44	0,43			
P1	0,55	0,55	0,55	0,56	0,59	0,46	0,54	0,61	0,52	0,54		
P8	0,79	0,73	0,74	0,84	0,71	0,71	0,73	0,74	0,77	0,74	0,71	

Anexo C – Medidas de distância entre 19 genótipos oriundos do BAG de cajá da Embrapa Meio-Norte, com base em 5 características morfológicas, utilizando a distância Euclidiana.

	BGC01	BGC02	BGC03	BGC04	BGC05	BGC07	BGC13	BGC14	BGC26	BGC22	BGC23	BGC06	BGC12	BGC08	BGC10	BGC11	BGC15	BGC29
BGC01																		
BGC02	1,64																	
BGC03	2,47	1,77																
BGC04	4,16	5,21	6,53															
BGC05	1,07	2,07	2,32	4,56														
BGC07	6,70	7,29	8,55	3,77	6,69													
BGC13	10,88	10,44	9,14	14,77	10,91	17,52												
BGC14	8,23	9,14	10,41	4,35	8,37	2,81	19,01											
BGC26	13,78	14,75	16,01	9,77	13,92	8,05	24,41	5,63										
BGC22	1,86	2,71	3,48	4,44	2,73	7,68	10,40	8,77	14,15									
BGC23	3,76	4,77	6,02	1,04	4,02	3,40	14,57	4,48	10,04	4,46								
BGC06	8,66	7,09	6,99	11,79	8,81	13,06	9,76	15,33	20,82	8,98	11,45							
BGC12	10,10	9,95	8,79	13,81	10,18	16,71	3,09	18,03	23,27	9,54	13,65	10,45						
BGC08	7,47	8,46	9,76	3,42	7,77	3,53	18,05	1,65	6,47	7,74	3,81	14,84	17,04					
BGC10	9,72	10,71	12,02	5,66	9,9	4,62	20,35	1,91	4,13	10,04	6,00	16,92	19,24	2,43				
BGC11	2,47	3,08	4,43	2,62	2,65	4,39	13,20	6,21	11,81	3,60	2,06	9,54	12,42	5,73	7,81			
BGC15	4,50	5,46	6,80	0,61	4,83	3,33	15,15	3,97	9,45	4,86	1,19	11,94	14,26	3,17	5,37	2,73		
BGC29	11,03	11,85	13,19	7,04	11,19	5,10	21,78	2,86	3,21	11,47	7,29	17,69	20,81	3,93	1,98	8,92	6,65	
BGC30	6,10	7,11	8,42	2,08	6,38	2,81	16,80	2,38	7,73	6,49	2,41	13,52	15,75	1,62	3,63	4,260	1,86	5,07